Postverlagsort Berlin

ZEITSCHRIFT FÜR ZELLFORSCHUNG UND MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN UND REDIGIERT VON

W. BARGMANN
KIEL

B. SCHARRER
NEW YORK

J. SEILER
ZÜRICH

55. BAND, 6. (SCHLUSS-)HEFT

MIT 92 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 8. DEZEMBER 1961)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1961

Z. Zellforsch.

Preis DM 51.60

Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie

Begründet 1924 unter dem Titel: Zeitschrift für Zellen- und Gewebelehre. Redigiert von *R. Goldschmidt* und *W. von Möllendorf*. Bd. 2—28 (1938). Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie. (Bd. 1—20), 1934 als: Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie Abteilung B) herausgegeben von *R. Goldschmidt, W. von Möllendorff, H. Bauer, J. Seiler*. Bd. 29—33 (1944) Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie Abteilung A. Allgemeine Zellforschung und mikroskopische Anatomie. Herausgegeben und redigiert von *W. von Möllendorff* und *J. Seiler*, Berlin, Springer. Bd. 34—35 (1948—1950) Springer, Wien, ab Bd. 36 Springer, Berlin, ab Bd. 34 ohne den Untertitel Abteilung A, Allgemeine Zellforschung usw.

Ab Bd. 2 (1925) mit dem Untertitel: Fortsetzung des Schultze-Waldeyer-Hertwigschen Archivs für mikroskopische Anatomie. [Dieses wurde begründet 1864. Bd. 1—13 (1876) herausgegeben von *Max Schultze*; Bd. 13, Heft 4, bis Bd. 35 (1890) herausgegeben von *v. La Valette St. George, W. Waldeyer*; Bd. 36—43 (1894) herausgegeben von *O. Hertwig, v. La Valette St. George, W. Waldeyer*. Ab Bd. 44 als Archiv f. mikroskopische Anatomie und Entwicklungsgeschichte, ab Bd. 77—95 (1910—1922) in 2 Abteilungen. Bd. 1—95, Bonn, Cohen. Ab Bd. 96 Berlin, Springer. Fortsetzung Bd. 98—104 (1923—1925) Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik. Herausgegeben von *W. Roux, H. Braus, H. Spemann*.]

Die Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie steht Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der beschreibenden und experimentellen Zellen- und Gewebelehre sowie dem Gebiet der mikroskopischen Anatomie des Menschen und der Tiere offen, wobei Arbeiten mit funktionellem und experimentellem Inhalt bevorzugt werden.

Arbeiten karyologischen Inhalts werden an die Zeitschrift „Chromosoma", Arbeiten zur histochemischen und histophysikalischen Grundlagenforschung, insbesondere ihrer Methodik, an die Abteilung „Histochemie" weitergeleitet.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung rascher Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Für den 16seitigen Druckbogen wird ein Unkosten-Ersatz von DM 20,—, jedoch höchstens DM 60,— für eine Arbeit vergütet.

Alle Manuskripte sind zu senden und Anfragen zu richten an:

Prof. Dr. W. Bargmann, Kiel, Anatomisches Institut der Universität, Neue Universität, Eingang F 1,

Prof. Dr. Berta Scharrer, Albert Einstein College of Medicine, Dept. of Anatomy, Eastchester Road and Morris Park Avenue, New York 61, N.Y., USA,

Prof. Dr. J. Seiler, Zürich 6, Sonneggstr. 45.

Springer-Verlag

Heidelberg 1, Postfach 3027, Fernsprecher 27901, Fernschreibnummer 04-61 723
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301, Fernschreibnummer 01-83319

---

55. Band **Inhaltsverzeichnis** 6. (Schluß-)Heft

Seite

Sterba, G., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Neurosekretion beim Bachneunauge (*Lampetra planeri* Bloch). Mit 18 Textabbildungen 763

Gusek, W., Zur ultramikroskopischen Cytologie der Belegzellen in der Magenschleimhaut des Menschen. Mit 8 Textabbildungen 790

Hoffmeister, H., K. Lickfeld, H. Ruska et B. Rybak, Sécrétions granulaires dans le coeur branchial de *Myxine glutinosa* L. Avec 4 Figures dans le Texte 810

Masshoff, W., und H.-J. Stolpmann, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Schalenhaut und Kalkschale des Hühnereies. Mit 6 Textabbildungen 818

Bloom, G., and L. Nicander, On the ultrastructure and development of the protoplasmic droplet of spermatozoa. With 9 Figures in the Text 833

Palkovits, M., Zwei karyometrisch unterscheidbare Zelltypen im Subcommissuralorgan der Ratte. Mit 3 Textabbildungen 845

Dorn, E., Über den Feinbau der Schwimmblase von *Anguilla vulgaris* L. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen. Mit 44 Textabbildungen 849

Autorenverzeichnis 913

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Zeitschrift für Zellforschung 55, 763—789 (1961)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Leipzig
(Direktor: Prof. Dr. G. Sterba)

FLUORESZENZMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE NEUROSEKRETION BEIM BACHNEUNAUGE (LAMPETRA PLANERI BLOCH)

Von

Günther Sterba

Mit 18 Textabbildungen

(Eingegangen am 8. Juli 1961)

Einleitung

Schiebler (1958) und Adam (1960) haben auf die Darstellbarkeit des Neurosekretes mit Pseudoisocyanin hingewiesen. Ähnlich wie Knorpelgewebe, Mastzellen und die B-Zellen in den Langerhansschen Inseln gibt das klassische Neurosekret der Wirbeltiere mit Pseudoisocyaninen eine metachromatische Reaktion. Die Metachromasie dieses Farbstoffes ist nach Scheibe und Schauer (1958), Scheibe und Zanker (1958), Schauer und Scheibe (1959), Schiebler (1958), Schiebler und Schiessler (1959) durch seine Fähigkeit bedingt, in entsprechend konzentrierten, wäßrigen Lösungen reversible Polymerisate in Form fadenförmiger Riesenmoleküle zu bilden. Dieses polymerisierte Pseudoisocyanin zeigt gegenüber dem Monomeren im Absorptionsspektrum eine charakteristische langwellig verschobene polymere Bande. In histologischen Präparaten erscheinen bei normalem Mischlicht nichtreagierende Strukturen ziegelrot, metachromatisch reagierende blaustichig rot. Bei monochromatischem Licht (Farbfilter 573 bzw. 578 mμ) treten die Unterschiede noch wesentlich kräftiger hervor.

Daß diese Reaktion in der Neurosekretforschung bislang keine große Beachtung fand, ist m. E. durch die noch zu grobe Methode der Auswertung bedingt, die in dieser Form die gängigen Nachweise mit Gomoris Chromhämatoxylin-Phloxin nach Bargmann oder Paraldehydfuchsin nach Gabe in ihrer Feinheit kaum übertrifft. Auf der Suche nach einem Verfahren, mit dem sich in histologischen Präparaten auf einfachem Wege auch geringste polymere Pseudoisocyaninmengen einwandfrei nachweisen lassen, war es naheliegend, die bekannte intensiv gelbe Fluoreszenz des polymerisierten Farbstoffes (vgl. Schiebler und Schiessler 1959) auszunutzen.

Tatsächlich lassen sich nach Beachtung bestimmter präparativer Methoden im Fluoreszenzmikroskop fast unvorstellbar feine Neurosekretmengen exakt nachweisen. Neurosekretführende Neuriten und Dendriten können als goldgelb aufleuchtende Fäserchen auf dunkelrotbraunem Untergrund bis in alle Einzelheiten verfolgt werden. Außer dem Neurosekret reagiert im Nervengewebe nur noch das Sekret des Subcommissuralorgans metachromatisch. Die in verschiedenen Zellen des Zentralnervensystems und der Ganglien nachgewiesenen gomorinegativen sekretartigen Substanzen (Sterba 1961) lassen sich zwar mit Pseudoisocyanin kräftig anfärben, reagieren jedoch nicht metachromatisch, d.h. leuchten

im Fluoreszenzmikroskop nicht auf. Gleiches gilt für die granulären Reservestoffe in verschiedenen Ependymzonen.

Die Identität zwischen der im Fluoreszenzmikroskop aufleuchtenden Substanz und dem mit Chromhämatoxylin nach GOMORI darstellbaren Neurosekret steht durch folgende Tatsachen außer Zweifel.

1. In Präparaten, die nach der Gomori-Methode behandelt wurden, lassen sich gomori-positive Neurosekrete nach Entfärbung nachträglich mit Pseudoisocyanin nachweisen.

2. Umgekehrt können in Präparaten nach einer fuoreszenzmikroskopischen Auswertung die gröberen Sekretansammlungen mit Chromhämatoxylin dargestellt werden.

Als erstes suchte SPEIDEL (1922) nach Drüsennervenzellen im Zentralnervensystem der Petromyzonten, ohne sie allerdings nachweisen zu können. Der Beschreibung der Commissura praeinfundibularis von *Lampetra fluviatilis* fügt HEIER (1948) folgenden Hinweis an: "Among these fibres are probably secretory fibres to the hypophysis, and possibly fibres to the ciliatory ependyma of the infundibulum." Fast gleichzeitig erscheinen später die Untersuchungen von MAZZI (1952), SCHARRER (1953) und BARGMANN (1953) über die Neurosekretion bei Petromyzonten. Bei *Petromyzon marinus* beobachtet MAZZI zwei Neurosekret-Typen: a) Kleine gomoripositive Granula, die in den Zellen des Nucleus praeopticus gebildet und in den Axonen des Tractus praeoptico-hypophyseus in die Neurohypophyse abgeleitet werden. Dieses Sekret soll dem Neurosekret der Selachier entsprechen. b) Hyaline, extrazelluläre, gomoripositive Kügelchen in einem großen Teil des Thalamus, deren Bildung fraglich ist. Dieses Sekret soll sich chemisch etwas von dem Sekret des Typ a unterscheiden und in Fasern eintreten, die in der Nähe des Tractus praeoptico-hypophyseus liegen, jedoch die Neurohypophyse nicht erreichen. Bei *Lampetra fluviatilis* konnte BARGMANN (1953) gleichfalls sekretorische Vorgänge in den Zellen des Nucleus praeopticus und eine Ableitung der gomoripositiven Substanz entlang des Tractus praeoptico-hypophyseus feststellen. Neben perlschnurförmig aufeinanderfolgenden kleineren Faserverdickungen wurden auch „erstaunlich voluminöse Anschwellungen" beobachtet. Eine dem Neurosekret b von MAZZI (1952) entsprechende Substanz wird von BARGMANN nicht erwähnt. ROTH (1956) beobachtete Neurosekretion auch im Nucleus commissurae postopticae von *Petromyzon marinus*. Einige Neuriten dieses Kerngebietes sollen mit Kapillaren in Verbindung stehen, die die „anterior pituitary gland" versorgen. Außerdem erwähnt ROTH erstmalig die Dendritenverbindung zum Ventrikel. OZTAN und GORBMAN (1960a, b) konnten schließlich bei der gleichen Art außer der Sekretion im Nucleus praeopticus auch im Recessus posterior eine Gruppe sekretorisch tätiger Zellen und einen nach caudal verlaufenden Tractus nachweisen. ADAM (1960) beschreibt bei *Myxine glutinosa* Neurosekrete im dorsalen Teil des hier schlauchförmigen Recessus neurohypophyseus, in der Commissura postoptica und vereinzelt in den höheren Bereichen des Hypothalamus; im Nucleus praeopticus konnten Sekrete nur ganz vereinzelt festgestellt werden. Schließlich hat STERBA (1961) auf sekretartige, mit Paraldehydfuchsin darstellbare Einschlüsse in zahlreichen Zellen des Gehirns und Rückenmarks sowie in den Gehirnnervenganglien von *Lampetra planeri* hingewiesen.

Nach KAMER und SCHREURS (1959) nimmt bei *Lampetra planeri* die Neurosekretmenge in der Neurohypophyse bis zur Metamotphose ab: "...; during metamorphosis the quantity decreases, though it now appears in the neighbourhood of the ventricle and near the blood capillaries. After metamorphosis neurosecretory material virtually disappears." Im Gegensatz zu dieser Angabe konnte LANZING (1959) bei *Lampetra fluviatilis* während der anadromen Migration begrenzte Mengen von Sekret in der Neurohypophyse nachweisen. OZTAN und GORBMAN (1960) stellten für die Zellen des Nucleus praeopticus eine von der Beleuchtung abhängige Sekretionsrhythmik fest.

Material und Methode

Die 47 untersuchten Hirne von *Lampetra planeri* BLOCH verteilten sich auf folgende Stadien: 11 Ammocoeten von 4—16,5 cm, 5 Metamorphosestadien, 12 Imagines während

der Winterruhe, 7 Imagines aus der Vorleichzeit, 9 Imagines während der Laichperiode, 3 Imagines nach der Laichphase. In allen Gruppen waren ♂♂ und ♀♀ vertreten. Die Tiere wurden in MS 222 anaesthetisiert und die Köpfe abgetrennt. Als Fixierungsmittel dienten die Flüssigkeiten nach: Held (+ Sublimat), Zenker, Helly sowie 6%iges Formalin. Die Objekte wurden nach der Entwässerung mit Äthylalkohol über Methylbenzoat in Paraffin gebracht. Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen wurden durch Vergleichsserien, die mit Gomoris Chromhämatoxylin nach Bargmann, Paraldehydfuchsin nach Gabe oder einer modifizierten Paraldehydfuchsin-Methode behandelt worden waren, ergänzt. Der normalen Paraldehydfuchsin-Methode wird folgende Behandlung angeschlossen: 10 min beizen in einer Lösung die ad 100 ml H_2O 4 g Phosphorwolframsäure und 1 g Phosphormolybdänsäure enthält. Abspülen in H_2O dest. Gegenfärbung: Ad 100 ml H_2O dest. 0,4 g Lichtgrün, 1,0 g Orange-G, 0,5 g Chromotrop II R, 1 ml Eisessig. Färbezeit 30—45 min. Ganz kurz abspülen in 95%igem Alkohol, dem 2 ml Eisessig zugefügt wurden. Abs. Alk., Xylol, Balsam. Ergebnis: Neurosekrete dunkelviolett, Zellplasma zart grau, Bindegewebe grün, Muskulatur rostrot, Erythrozyten orange.

Pseudoisocyaninreaktion: Voraussetzung sind dünne histologische Schnitte von 3—4 μ. Bei Verwendung dickerer Schnitte ist der Zeitpunkt der maximalen Polymerisation wesentlich variabler und damit die Möglichkeit einer Überfärbung, die mit einer teilweisen oder vollständigen Löschung der Sekundärfluoreszenz einhergeht, wesentlich größer. Alle folgenden Angaben beziehen sich auf 4 μ dicke Schnitte, diese selbst können mit Eiweißglyzerin aufgeklebt werden.

Die Entparaffinierung soll möglichst schnell erfolgen. Die Schnitte kommen zur Oxydation aus H_2O dest. für etwa 3 min in frisch hergestellte, aber 15—20 min abgestandene $KMnO_4$-Lösung (2 Teile 2,5%ige $KMnO_4$-Lösung, 2 Teile 5%ige H_2SO_4 und 16 Teile Aqua dest.). Anschließend in 1,5%igem Natriumbisulfit 10—30 sec bleichen und mindestens 5 min in fließendem Leitungswasser wässern. Nach kurzer Überführung in Aqua dest. kommen die Schnitte in eine wäßrige Lösung von N,N′-Diäthylpseudoisocyaninchlorid (14,5 mg ad 100 ml H_2O dest.). Färbungsdauer 2—2,5 min. Anschließend kurzes Einstellen der Schnitte in Ammoniakwasser (2 Tropfen auf 100 ml H_2O dest., die schwach alkalische Reaktion verlangsamt die Depolymerisation im UV-Licht erheblich).

Die Schnitte werden direkt aus dem Ammoniakwasser, in dem sie längere Zeit stehen können (30—40 min), eingedeckelt. Nur so ist nach unseren Beobachtungen gewährleistet, daß auch die geringsten Neurosekretmengen ihre Metachromasie behalten. Eine Eindeckung der Präparate mit Glyzerin, wie es von Schiebler und Schiessler (1959) für Pankreasschnitte empfohlen wird, führt zu einer teilweisen Depolymerisation.

Für die fluoreszenzmikroskopische Beobachtung wurden eine Quecksilberhöchstdrucklampe und die Filter UG 1/1,5 sowie die Okularsperrfilter GG 9 und GG 11 verwendet. Für die Aufnahmen erwiesen sich bei der gleichen Filteranordnung höchst panchromatische Platten 21/10 ° Din als besonders geeignet. Der in den Strahlengang gebrachte Schnitt muß sofort ausgewertet werden, da unter Einwirkung des UV-Lichtes eine langsame Löschung der Sekundärfluoreszenz durch Depolymerisation des polymeren Pseudoisocyanin stattfindet.

Bei der Verwendung der oben angegebenen Filter leuchtet die positiv reagierende Substanz, d.h. polymeres Pseudoisocyanin, je nach Polymerisationsgrad intensiv gelb bis goldgelb (580—616 mμ) auf. Monomeres Pseudoisocyanin gibt keine Sekundärfluoreszenz. Die nicht reagierenden Gewebebestandteile erscheinen deshalb dunkel rotbraun. Bei Überfärbung der Schnitte tritt zum Teil Löschung ein, die vermutlich durch eine Überlagerung des polymeren Farbstoffes zustande kommt.

Überfärbte Schnitte lassen sich in fließendem Leitungswasser differenzieren. Wie oben angedeutet, führt die UV-Bestrahlung zu einer Depolymerisation. Solche Schnitte lassen sich durch erneutes Einstellen in Pseudoisocyanin gleichsam regenerieren, trotzdem wird dabei niemals die ursprüngliche Intensität der Reaktion erreicht. Dies deutet an, daß die Depolymerisation im UV-Licht mit anderen Veränderungen einhergeht. Über die speziellen Voraussetzungen der Pseudoisocyaninreaktion s. S. 785.

Zur Kontrolle wurden von der Neurohypophyse Quetsch- und Zupfpräparate unter verschiedenen Bedingungen ausgewertet.

Anordnung und Verbindungen der neurosekretorischen Zellen

I. Nucleus praeopticus

Der Nucleus praeopticus liegt bei *Lampetra* in den seitlichen Wänden des III. Ventrikels direkt über dem Chiasma opticum (Abb. 1—3). Er erstreckt sich bei Imagines nach eigenen Untersuchungen wesentlich weiter nach vorn. Die kleinen, dicht gelagerten, in mehreren unregelmäßigen Schichten angeordneten Zellen (Abb. 2, 3) grenzen bei den Larven direkt an das Ependym. Gegen Ende der Larvenperiode wird zwischen den Nucleus praeopticus und das Ependym ein Stratum album periventriculare eingeschoben und dadurch die Verbindung zum Ventrikel wie weiter unten unter 1. angegeben verändert (Abb. 3). Mehrere Zellen sind, wie bereits Heier (1948) betont, in Richtung der efferenten Bahnen ausgewandert. Das Ependym zeigt über dem Nucleus praeopticus keine Besonderheiten; es enthält hier nur wenige paraldehydfuchsinpositive Granula.

Der Sekretgehalt der Zellen des larvalen Nucleus praeopticus ist, wie aus der Intensität der Lumineszenz geschlossen werden kann, fast einheitlich mittelmäßig. Dagegen zeigt dieses Kerngebiet nach der Metamorphose verhältnismäßig mehr Zellen mit großen Sekretmengen als andere sekretorisch tätige Kerngebiete. Vom Nucleus praeopticus gehen folgende Sekretbahnen aus:

1. Feinste sekretführende Dendriten, die gestreckt zum Ependym verlaufen, zwischen den Ependymzellen bis zum Ventrikel vordringen und dort mit einem Sekretpropf enden, sowie Dendriten, die sich bis in das Stratum album periventriculare vorschieben und sich hier mit mehreren Ästen parallel zur ventriculären Oberfläche ausbreiten. Bei der oben angegebenen Entwicklung dieser Schicht vor der Metamorphose werden zwar die meisten Zellen des Kerns vom Ependym abgedrängt, einzelne bleiben jedoch am Ependym liegen und werden jetzt gleichsam zwischen die Ependymzellen eingeschoben (Abb. 4a). Solche Zellen findet man hauptsächlich im dorsalen Teil des Nucleus praeopticus, ihr Dendrit ist kurz, entspricht aber vollkommen den gleichsam ausgezogenen Dendriten der Zellen, die seitlich vom Stratum album periventriculare liegen.

2. Die Neuriten der spindelförmigen Zellen des Nucleus praeopticus entspringen lateral und enthalten stets Sekret in sehr unterschiedlichen Mengen (Abb. 2, 3, 4a). Zwischen Neuriten mit Perschnurcharakter und solchen mit feinsten eben noch sichtbaren Sekretkörnchen bestehen alle Übergänge. Die Neuriten geben zahlreich Kollateralen ab. Die sekretführenden Neuriten des Nucleus praeopticus sind in vier Richtungen deutlich zu verfolgen, nämlich als:

a) Sehr feine diffus durcheinanderlaufende Fasern, vorwiegend Kollateralen mit und ohne Perlschnurcharakter, die nach vorn in den Nucleus commissurae supraopticae und nach dorsal zum Corpus striatum verlaufen, von wo vereinzelte Fasern in verschiedene Kerngebiete des Telencephalon, vor allem des Lobus olfactorius, vordringen (Abb. 1c).

b) Ferner als sekretführende Axone, die direkt zum Infundibulum ziehen, wobei sich zwei Wege unterscheiden lassen. Die Neuriten der vordersten Zellen des Nucleus praeopticus (Abb. 2) gelangen vor dem Chiasma opticum nach ventral, treten unter ihm hindurch, wobei sie sich teilweise kreuzen, um gestreckt verlaufend das Infundibulum zu erreichen (Abb. 1c, 5). Die Neuriten der mittleren Zellen ziehen dagegen z.T. zunächst bogenförmig nach hinten und wenden sich unmittelbar hinter dem Chiasma gegen das Infundibulum (Tractus praeoptico infundibularis, Tractus praeoptico-hypophyseus, Abb. 1c, 3, 5).

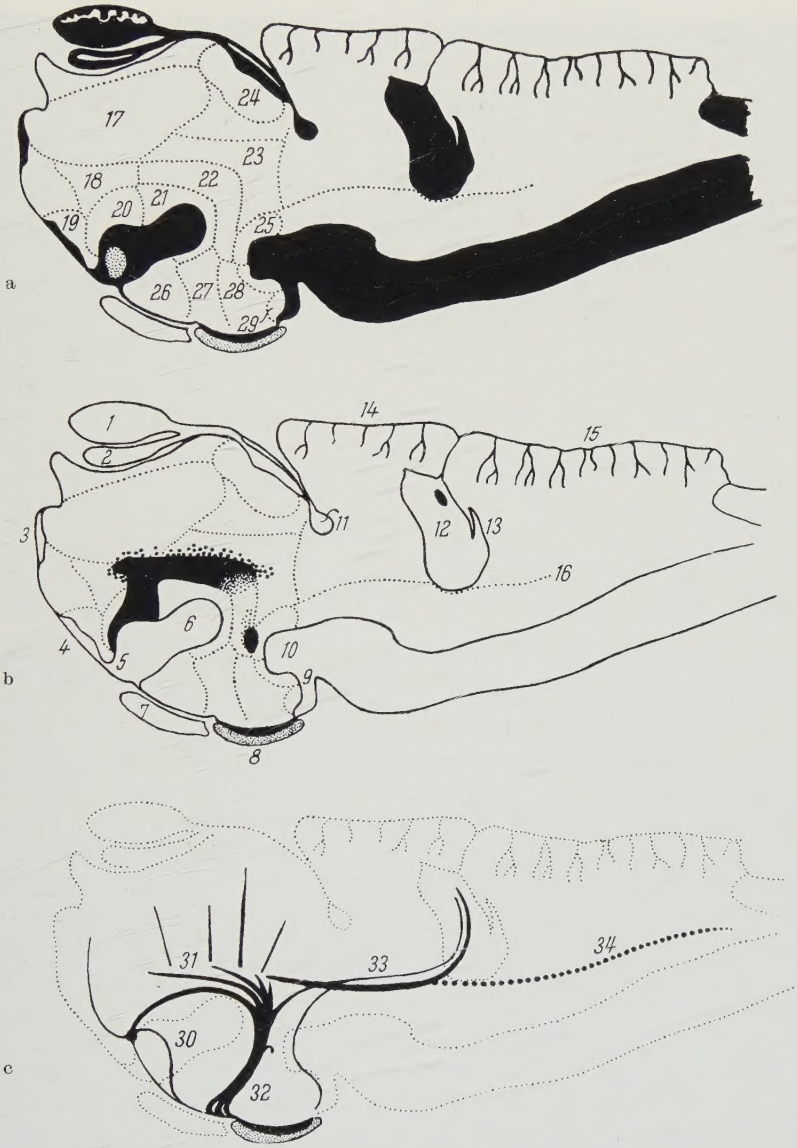

Abb. 1a—c. Schematisierter Medianschnitt durch das Gehirn eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*. a Die wichtigsten Kerngebiete des Tel- und Diencephalon. b Die Verteilung der neurosekretorischen Zellen (schwarze Flächen). c Verbindungen der sekretführenden Dendriten und Neuriten

1 Pinealorgan; *2* Parapinealorgan; *3* Commissura interbulbaris; *4* Commissura supraoptica; *5* Chiasma; *6* Commissura postoptica; *7* Pro- und Mesoadenohypophyse; *8* Metaadenohypophyse; *9* Commissura postinfundibularis; *10* Tuberculum posterius und Commissura tuberculi posterioris; *11* Commissura posterior, darunter das Subcommissuralorgan; *12* Tectum opticum; *13* Cerebellum; *14* Plexus mesencephali; *15* Plexus rhombencephali; *16* Sulcus limitans His; *17* Primordium hippocampi; *18* Corpus striatum; *19* Nucleus commissurae supraopticae; *20* Nucleus praeopticus; *21* Nucleus commissurae postopticae; *22* Pars ventralis thalami; *23* Pars dorsalis thalami; *24* Ganglion habenulare; *25* Nucleus tuberculi posterioris; *26* Nucleus commissurae praeinfundibularis, darunter als schwarzer Strich die Kommissur selbst; *27* Pars ventralis hypothalami, lobus anterior; *28* Pars ventralis hypothalami, lobus posterior; *29* Infundibulum; *30* Tractus praeoptico-hypophyseus; *31* Sekretbahnen aus dem Corpus striatum und Pars ventralis thalami; *32* Sammelbahn sekretführender Neuriten; *33* Sekretbahn zwischen dem Pars ventralis thalami und dem Tectum opticum; *34* Sekretführende Neuriten der Pars ventralis thalami, die bei den Ammocoeten bis weit in das Rhombencephalon vordringen

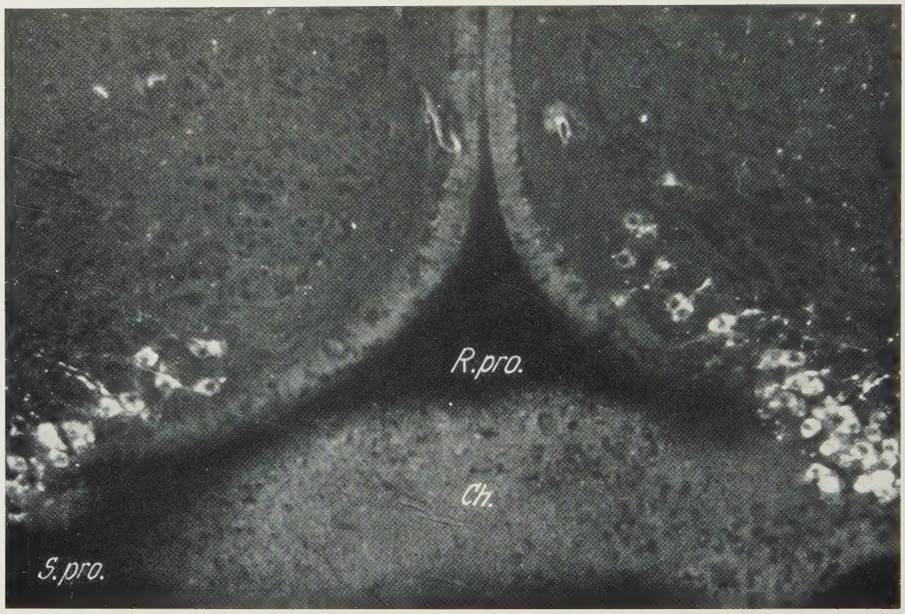

Abb. 2

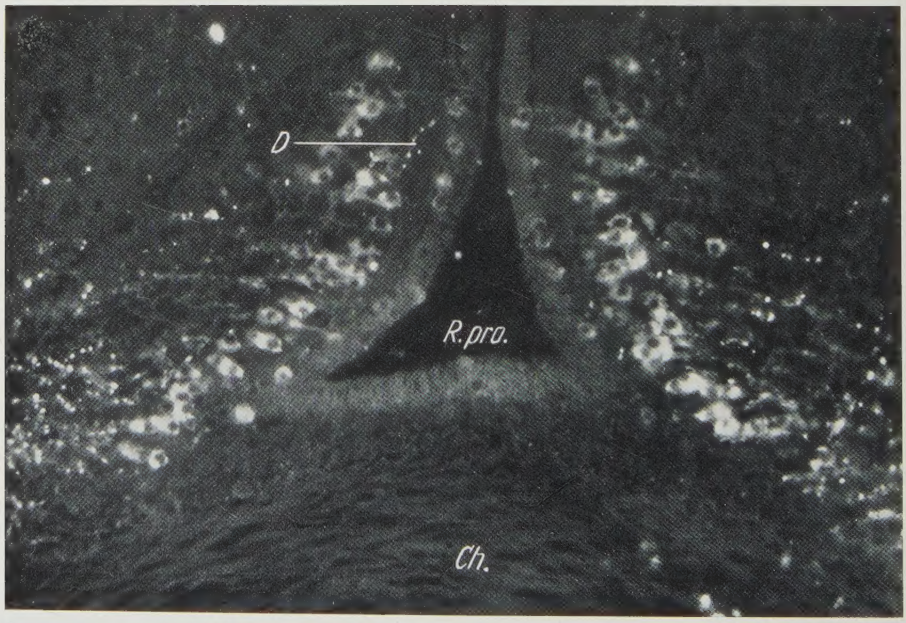

Abb. 3

Abb. 2. Querschnitt durch den vordersten Teil des Nucleus praeopticus eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*. Chiasma; *R. pro.* Recessus praeopticus; *S. pro.* Verbindung zum Saccus praeopticus. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9; Vergr. 250fach

Abb. 3. Querschnitt durch den mittleren Teil des Nucleus praeopticus. *D* stark sekretgefüllter Dendrit. Weitere Angaben wie bei Abb. 2

c) Weiterhin als sekretführende Axone, die vermutlich indirekt zum Infundibulum gelangen und eventuell auch in das Mes- und Rhombencephalon vordringen.

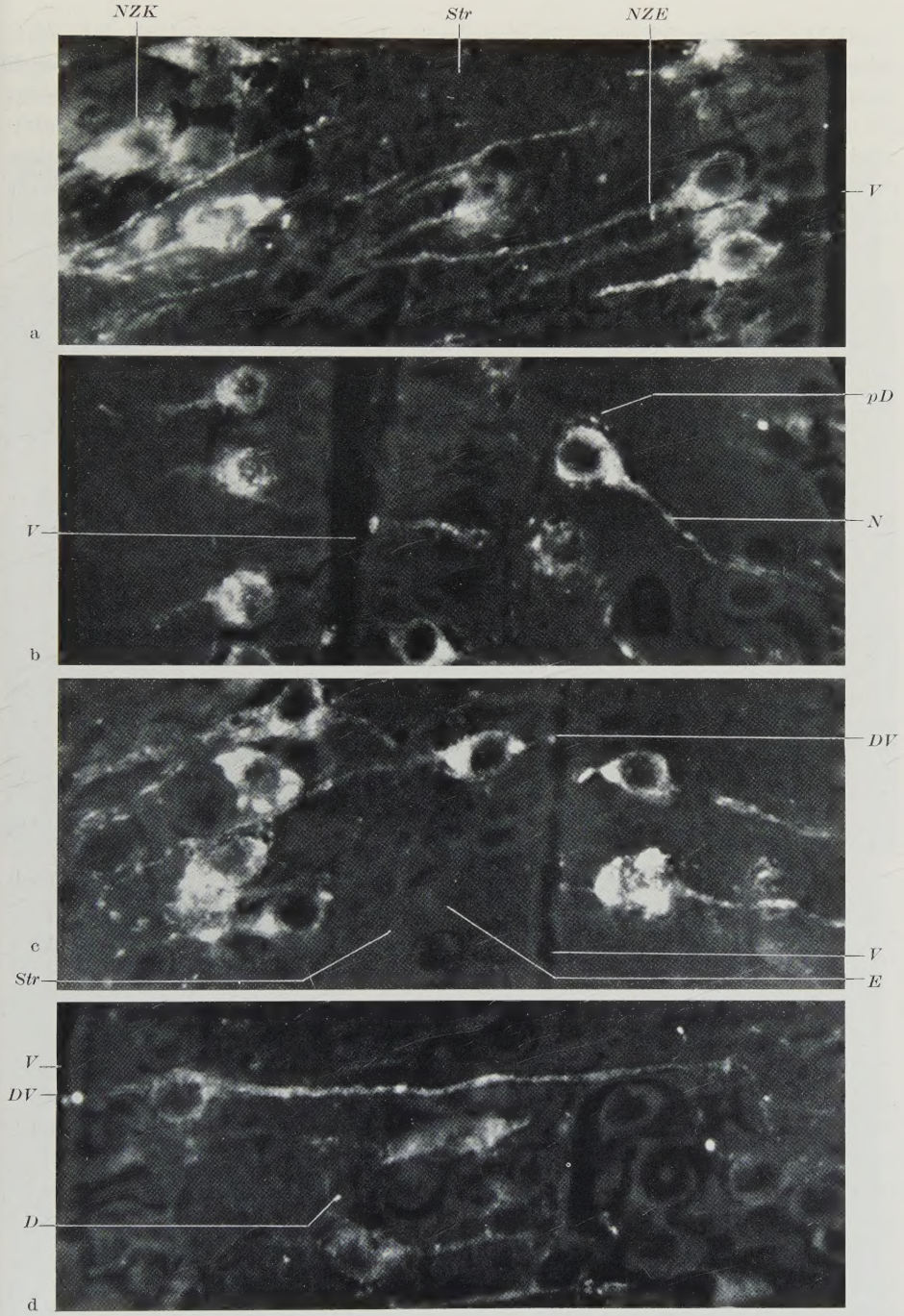

Abb. 4a—d. Neurosekretorische Zellen verschiedener Kerngebiete. a Hinterer Abschnitt des Nucleus praeopticus. b Pars ventralis thalami. c Pars ventralis thalami. d Hinterer Abschnitt des Corpus striatum. *D* Sekretführender Dendrit; *DV* sekretführender Dendrit zum Ventrikel; *E* Ependym; *N* sekretführender Neurit; *NZE* sekretorische Nervenzelle im Ependym; *NZK* sekretorische Nervenzelle im Kerngebiet; *pD* perizelluläre Dendriten; *Str* Stratum album periventriculare; *V* Ventrikel. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 11; Vergr. 1000fach

d) Die meisten Zellen des Nucleus praeopticus entsenden jedoch ihre Fortsätze in die seitlichen oberflächennahen Gebiete des Diencephalon, wo sie sich etwas dorsal wenden und dann zwischen den Fasern des Tractus olfacto-thalamicus et hypothalamicus und Tractus strio-thalamicus et hypothalamicus caudalwärts ziehen. Da sich diesen Bahnen auch die sekretführenden Fasern aus dem Corpus striatum und der Pars ventralis thalami anschließen, ist eine weitere Verfolgung der einzelnen Fasern des Nucleus praeopticus nicht mehr möglich (Abb. 1c, 5). Über den Verbleib dieser Fasern s. S. 776).

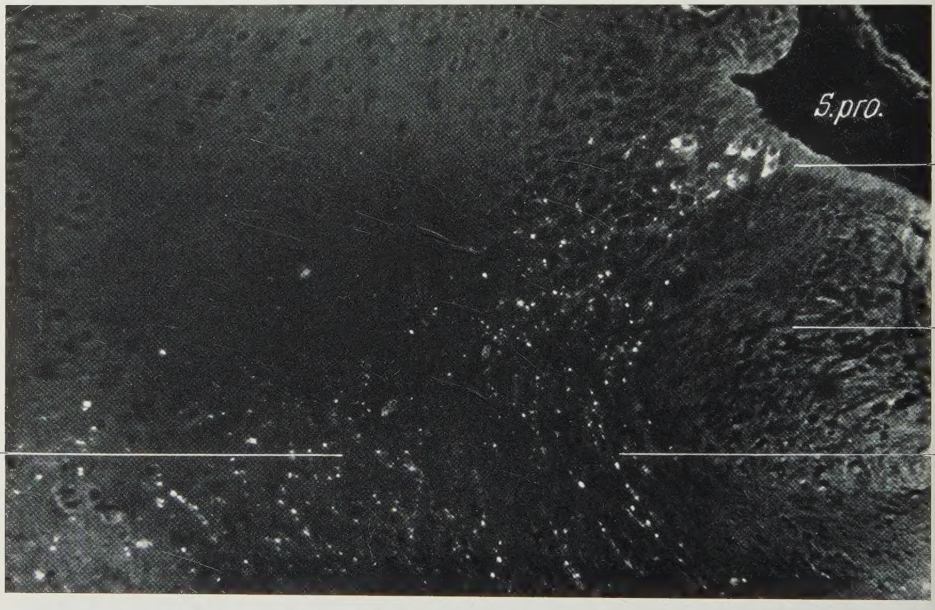

Abb. 5. Flachschnitt durch den vordersten, am meisten seitlich gelegenen Abschnitt des Nucleus praeopticus (vgl. Abb. 2) mit den dazugehörigen sekretführenden Neuriten. *B* Neuriten, die sich dem Tr. olfacto-thalamicus und hypothalamicus und Tr. strio-thalamicus und hypothalamicus anschließen und später in die große Sammelbahn eingehen; *Ch* Chiasma; *S. pro.* Saccus praeopticus; *T. pro. inf.* Tractus praeoptico-infundibularis bzw. hypophyseus. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9; Vergr. 220fach

II. Corpus striatum

Das Corpus striatum der Neunaugen liegt in der seitlichen Wand des Telencephalon. Sein Kerngebiet bildet gleichsam die bogenförmig dorsolateral ausschwingende Fortsetzung des Nucleus praeopticus (Abb. 1, 6, 7). Wie TRETJAKOFF (1909) schon andeutet, sind in der Larvenperiode die beiden Kernlager kaum abgegrenzt. Allerdings trennt auch im Hirn der Larven ein breites Stratum album periventriculare den Kern des Corpus striatum vom Ependym.

Im caudalen Teil des Corpus striatum sind sowohl während der Larvenzeit als auch bei den Imagines sekrethaltige Zellen festzustellen. Während aber bei den Larven in diesem Gebiet nur vereinzelte Zellen eine positive Reaktion geben, sind bei den Imagines fast alle Zellen des caudalen Bereiches sekretorisch tätig. Wie für den Nucleus praeopticus beschrieben, befinden sich auch im Bereiche des Corpus striatum einzelne sekretorische Nervenzellen direkt im Ependym (Abb. 4d, 7), die vermutlich bei der Bildung der den Kern vom Ependym abdrängenden Faserschicht hier liegen geblieben sind.

Die Dendriten der sekretorischen Striatum-Zellen reichen zum Teil bis in den Hippocampus, zum Teil wenden sie sich lateral und verbreiten sich im Stratum nervosum superficiale des Striatum. Sie führen in der Regel weniger Sekret als

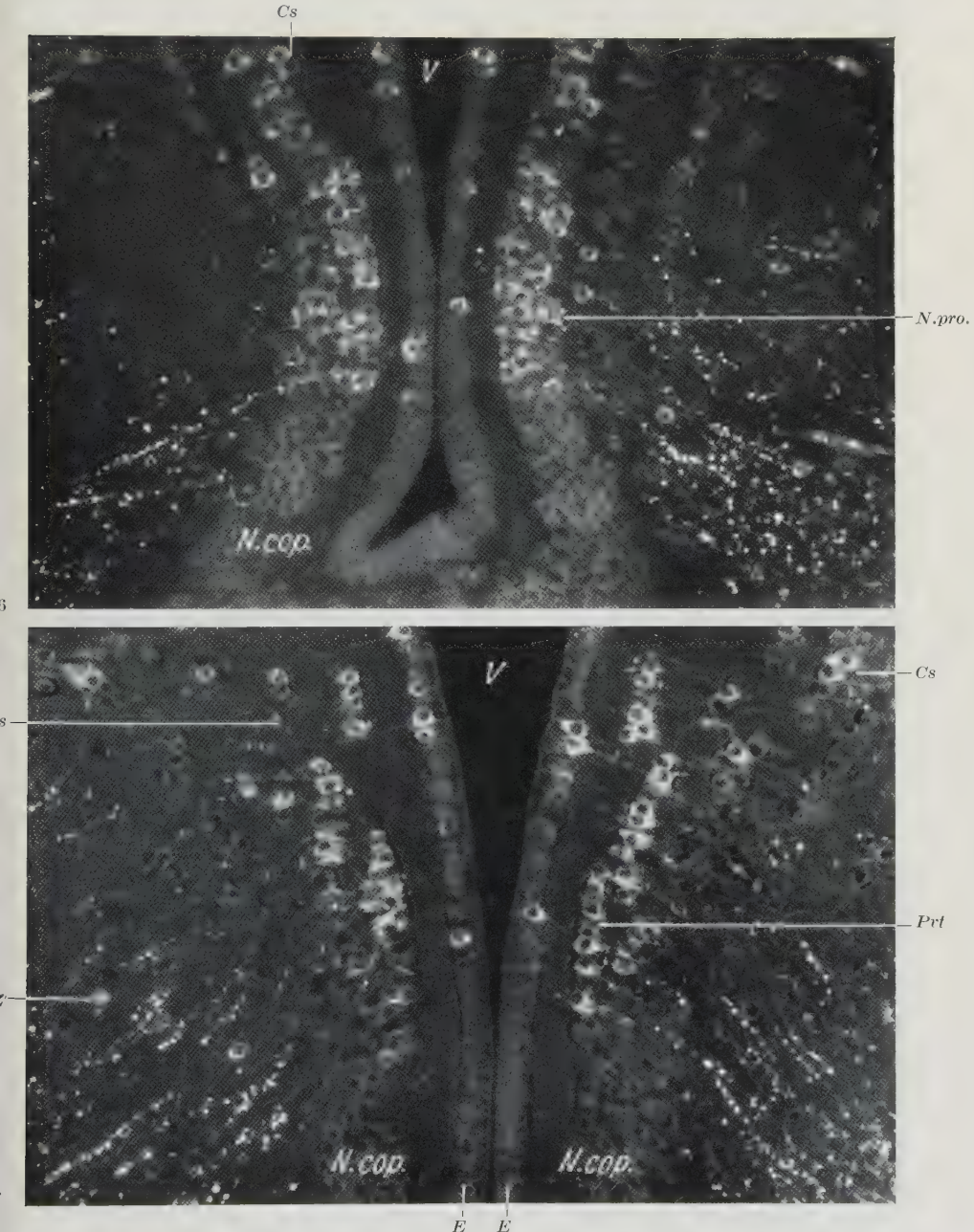

Abb. 6 und 7. Querschnitte durch den hinteren Abschnitt des Nucleus praeopticus und hinteren Teil des Corpus striatum eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*. *Cs* sekrethaltige Zellen des Corpus striatum; *E* Ependym; *N. cop.* Nucleus commissurae postopticae; *N. pro.* die hintersten sekrethaltigen Zellen des Nucleus praeopticus; *Prt* die vordersten sekrethaltigen Zellen der Pars ventralis thalami; *vNZ* in Richtung der efferenten Bahnen aus dem Kern herausverlagertes Neuron; *V* Ventrikel. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9. Vergr. 250fach

die Neuriten. Diese verlaufen zunächst gestreckt schräg nach ventrolateral (Abb. 1c, 7) und schließen sich dann dem Tractus olfacto-thalamicus et hypothalamicus und Tractus strio-thalamicus et hypothalamicus an. Die Neuriten sind sehr sekretreich und zeigen meist deutliche perlschnurförmige Sekretanhäufungen (Abb. 7).

III. Commissura postoptica und Nucleus commissurae postopticae

Der Nucleus umgibt die große, weit in den Ventrikel vorspringende, das Infundibulum vorn begrenzende Kommissur dorsal und caudal. Die topographischen Verhältnisse sind am besten aus Abb. 1a zu ersehen. Das Kerngebiet besitzt nur sehr wenige sekretorisch tätige im Grenzbereich gegen den Nucleus praeopticus und das Corpus striatum gelegene Neurone. Dagegen treten in der Kommissur vereinzelte Neuriten auf die andere Seite und verlaufen in der Wandung des Recessus postopticus nach vorn und erreichen hier den Boden des Hypothalamus.

IV. Pars ventralis thalami

Dieses von der Pars dorsalis thalami ventrikelseitig durch den Sulcus limitans His gut abgegrenzte motorische Koordinationszentrum dehnt sich in rostrocaudaler Richtung zwischen dem Corpus striatum des Telencephalon und dem Tegmentum motoricum mesencephali aus (Abb. 1). Die Grenze gegen den Hypothalamus ist durch den Sulcus ventralis angedeutet. Der hinterste Abschnitt der Pars ventralis thalami wird durch das Tuberculum posterius und den dazugehörigen Kern dargestellt, der das Tuberculum rostro-dorsal umgibt (Heier 1948, Abb. 1). Die Zellen des ventralen Thalamus sind durch ein Stratum album periventriculare vom Ependym deutlich abgesetzt (Abb. 4b u. c, 7, 8). In der ganzen Pars ventralis thalami, nicht aber im Bereich des Nucleus tuberculi posterioris, sind bei larvalen und imaginalen Neunaugen sekretorische Nervenzellen vorhanden (Abb. 1b). Sie liegen hier jedoch niemals so dicht wie im Nucleus praeopticus oder im Corpus striatum, sondern sind in der Regel in kleinen Gruppen angeordnet, deren Zahl von vorn nach hinten abnimmt. Auch in der Pars ventralis thalami kommen sekretorische Neurone im Ependym vor (Abb. 8).

Besonders bemerkenswert ist ein Ependymbezirk unmittelbar vor dem Tuberculum posterius, etwa an der Grenze der eigentlichen Pars ventralis thalami und dem Nucleus tuberculi posterioris (Abb. 1a). Das hier ganz leicht vorgewölbte Ependym ist von zahlreichen sekretführenden Dendriten durchsetzt, die sämtlich mit kleinen Sekretpfopfen in das Ventrikellumen ragen (Abb. 10). Die dazugehörigen Zellen unterscheiden sich etwas von den charakteristischen Neuronen. Entsprechende Zellen kommen auch, allerdings weniger zahlreich, unter dem Ependym des Recessus posterius hypothalami und noch seltener in anderen Gebieten des Hypothalamus vor und wurden von Tretjakoff (1909) bereits besonders hervorgehoben: „Der zentrale Fortsatz der infundibulären Zellen scheint eine konstante funktionelle Anpassung zu sein.“ Die lateralen Fortsätze dieser Zellen verästeln sich nach Tretjakoff (1909) in allen Richtungen, bilden zahlreiche Kollateralen und schließen sich keinen differenzierten Bahnen an. Einzelne dieser Fortsätze gelangen bis in das Striatum. Oztan und Gorbman

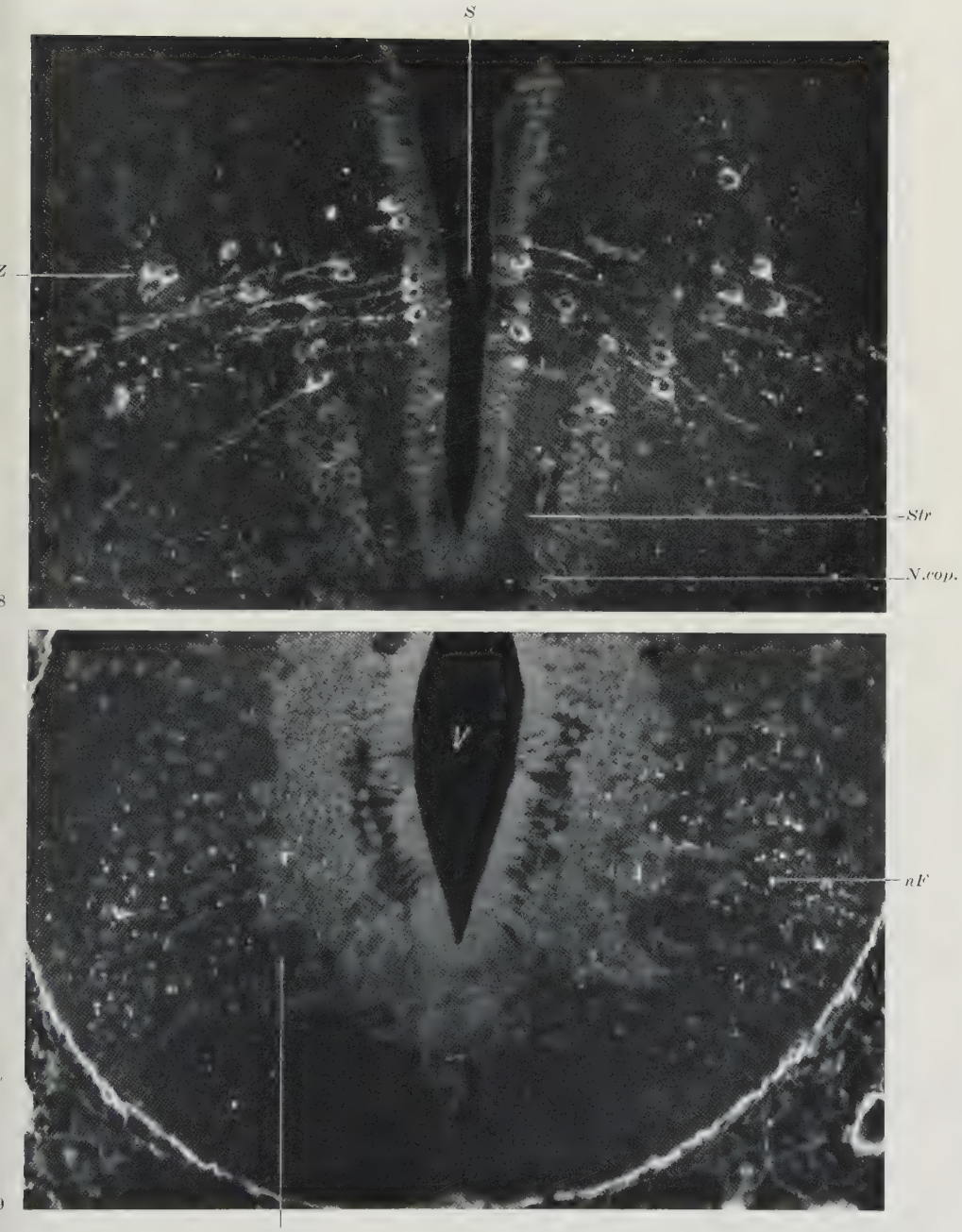

Abb. 8. Querschnitt durch den Pars ventralis thalami einer 12,3 cm langen Larve von *Lampetra planeri*. *N. cop.* Nucleus commissurae postopticae; *S* Sekret im Ventrikel; *Str* Stratum album periventriculare; *vNZ* in Richtung der efferenten Bahnen aus dem Kerngebiet herausverlagerte Neurone. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5 GG 9. Vergr. 250fach

Abb. 9. Querschnitt durch das Mesencephalon einer 9 cm langen Larve in Höhe des Tectum opticum. *MZ* angeschnittene Müllersche Zelle; *nF* sekretführende Neuriten, die caudal bis in das Rhombencephalon vordringen; *V* Ventrikel. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9; Vergr. 250fach

(1960a, b) bezeichnen die geschilderte Anhäufung neurosektorischer Zellen als „postero-ventral Region". Der Zellkörper dieser kleinen, stets unmittelbar unter dem Ependym liegenden Nervenzellen enthält in der Regel nur wenig positiv reagierende Substanz (Abb. 10); die lateralen Fortsätze sind zum Teil wenig, zum Teil stark mit Sekret angefüllt. Die auffällige Konzentration dieser Elemente an der beschriebenen Stelle hat sicher nicht zufälligen Charakter, doch wird auf eine Interpretation absichtlich verzichtet. Es sei lediglich erwähnt, daß gerade an dieser Stelle die Liquorströmung den Hypothalamus verläßt.

Von der Pars ventralis gehen folgende Sekretbahnen aus:

1. Sekretführende Fasern zu cranialen und caudalen Hirngebieten (Abb. 1c).

Tretjakoff (1909) beschreibt die Thalamuszellen als pyramidenförmige Elemente mit einem Hauptfortsatz, der zur Gehirnoberfläche den Neuriten abgibt und sich schließlich in zahlreiche Endfäden teilt, die ein Geflecht bilden (Abb. 17d). Da sich unter die Fasern dieses Geflechtes auch die sekretführenden Fasern des Nucleus praeopticus und Corpus striatum mischen, ist eine Verfolgung einzelner sekretorischer Fasern nicht mehr möglich. Außerdem gelangen von den Zellen der Pars ventralis thalami sekretführende Fortsätze mit dem Fasciculus longitudinalis in das Mesencephalon, wo sie zahlreiche Kollateralen abgeben, die sich besonders um die Müllerschen Zellen des Mesencephalon gruppieren (Abb. 1c, 9).

Bei Larven tritt die Hauptmasse der mesencephalischen sekretführenden Fasern in das Rhombencephalon über. Die einzelnen Fortsätze werden caudalwärts immer spärlicher, ohne daß ein Bezug zu bestimmten Kerngebieten beobachtet werden kann. Bei der angewandten Technik einwandfrei positiv reagierende perlschnurförmige Fasern wurden bei Larven bis zur Austrittsstelle des *Nervus lateralis posterior* festgestellt.

Ein Teil der Fasern wendet sich bereits vor Übertritt in das Rhombencephalon nach dorsal, durchsetzt den Lemniscus vestibulo-lateralis, kreuzt in der Decussatio tractus vestibulo-cerebellaris und gelangt in den hinteren Abschnitt des Tectum opticum (Abb. 1c, 11). Zellen mit Sekret konnten bei Larven weder im Mes- noch im Rhombencephalon festgestellt werden. Bei den Imagines sind im Rhombencephalon so gut wie keine positiv reagierenden Fasern anzutreffen. Dagegen treten wesentlich mehr Fasern in das Tectum opticum ein. Besonders bemerkenswert ist jedoch, daß hier jetzt einige sekretführende Zellen vorkommen, die bei Larven sicher nicht vorhanden sind. Ob die Fortsätze dieser Zellen sich nur lokal verbreiten oder wenigstens teilweise mit dem Tractus tecto-thalamicus et hypothalamicus in das Infundibulum gelangen, konnte nicht sicher ausgemacht werden. Außer den zum Corpus striatum verlaufenden und in weiter caudal liegende Gehirngebiete absteigenden sekretführenden Fasern kann man vereinzelte Fasern beobachten, die in den dorsalen Thalamus aufsteigen und von hier bis zur Commissura posterior gelangen. Frei bleiben von solchen Fasern stets die Habenularganglien.

2. Verbindung der Pars ventralis thalami zum Infundibulum.

Ein großer Teil der sekretführenden Fasern der Pars ventralis thalami gelangt direkt in das Infundibulum. Diese schließen sich der großen Sammelbahn sekretführender Fasern zur Hypophyse an, s. S. 776).

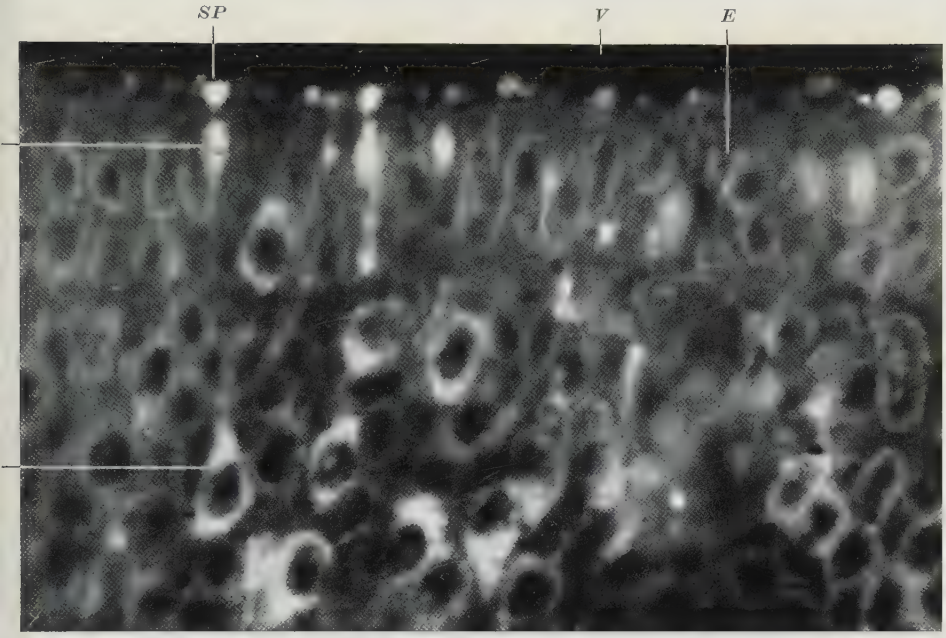

Abb. 10. Schnitt durch die Zellgruppe am caudalen Ende der Pars ventralis thalami und Anfangsteil des Nucleus tuberculi posterioris eines erwachsenen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*. *D* sekretführender Dendrit; *E* Ependym; *nZ* sekrethaltige Nervenzelle; *SP* Sekretpfropf; *V* Ventrikel. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 11. Vergr. 1000fach

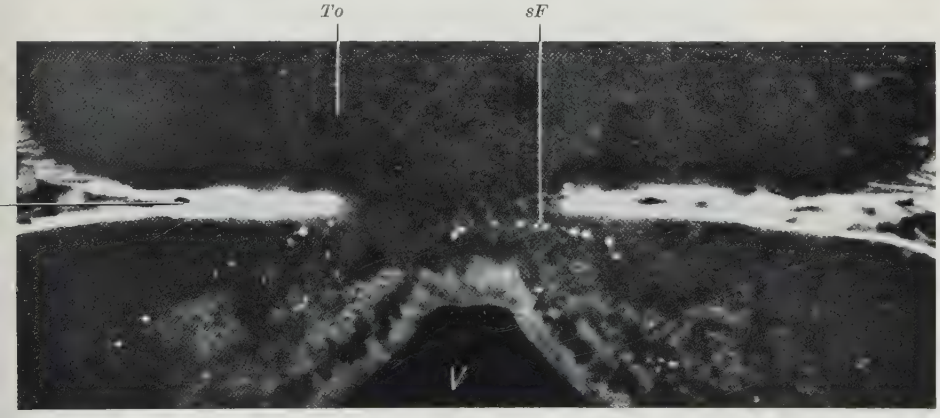

Abb. 11. Schnitt durch die Decussatio tractus vestibulo-cerebellaris einer 9 cm langen Bachneunaugenlarve *(Lampetra planeri)*. *B* Bindegewebsmembran; *sF* sekretführendes Neuron; *To* Tectum opticum; *V* Ventrikel. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9. Vergr. 250fach

V. Der Hypothalamus

Nach Heier (1948) ist der Hypothalamus der Neunaugen ein Korrelationszentrum, das olfactorische und somatische, vielleicht auch Geschmacks- und viscerale Impulse miteinander in Verbindung setzt.

Der Hypothalamus wird vorn durch die Commissura postoptica, caudal durch die Commissura postinfundibularis und die Commissura tuberculi posterioris begrenzt. Die Seitenwände werden in verschiedene Gebiete unterteilt, von denen hier nur der größte, die sog. Pars ventralis hypothalami, interessiert (Abb. 12).

Der Boden des Hypothalamus gliedert sich in zwei Abschnitte (HEIER 1948, BARGMANN 1953, ADAM 1956). Der vordere Abschnitt, die Commissura praeinfundibularis, von HEIER (1948) als Boden der Pars ventralis thalami, von ADAM (1956) als „(einfaches) Infundibulum" bezeichnet, ist sehr dünn und wird von rundkernigen Ependymzellen gebildet (Abb. 14). Ependymfasern sind hier nur schwach oder gar nicht darstellbar (ADAM 1956). Diesem Teil des Bodens liegt, durch eine relativ dicke Bindegewebsschicht getrennt, die Pro- und Mesoadenohypophyse an (ADAM 1956, PICKFORD und ATZ 1957, KAMER und SCHREURS 1959). HEIER (1948) bezeichnet die Fasern der Commissura praeinfundibularis als außerordentlich fein und gibt folgende Bahnverbindungen an:

1. Fasern zur Hypophyse und vielleicht auch zu dem begeißelten Ependym des Infundibulum.

2. Fasern, die zwischen der Kommissur und dem Lobus anterior hypothalami, dem Nucleus commissurae postopticae und dem Nucleus praeopticus ausstrahlen. Hierzu gehören die Fasern des Tractus praeoptico-infundibularis und hypophyseus.

3. Fasern, die von dem zur Kommissur gehörenden Kerngebiet (Nucleus commissurae praeinfundibularis) kommen und vielleicht Impulse vom Tel-, Di- und Mesencephalon zur Hypophyse vermitteln.

4. Als besonders wichtig wird folgender Hinweis von HEIER (1948) angesehen: "The tractus hypothalamo-thalamicus et tectalis have relation to this commissurae. It is possible that this tract contains fibres from the pars dorsalis thalami and the mesencephalon to the pars ventralis hypothalami and the hypophysis. ..." (S. 62).

Die eingehende Beschreibung der Commissura praeinfundibularis ist hier erforderlich, weil sämtliche sekrethaltigen Fasern zu der Hypophyse und vielleicht auch von der Hypophyse über diese Kommissur verlaufen. MAZZI (1952) und BARGMANN (1953) beschrieben bei Neunaugen den Tractus praeoptico-infundibularis bzw. hypophyseus. Diese Angaben konnten auf S. 766 bestätigt und dahin erweitert werden, daß nur bestimmte Zellen dieses Kerns die angegebene Bahn benutzen. Die Hauptmasse der sekretführenden Fasern der Kerne Nucleus praeopticus, Corpus striatum, Pars ventralis thalami, bei Imagines eventuell auch des Tectum opticum, tritt jedoch an anderer Stelle in die Commissura praeinfundibularis ein.

Wie schon mehrfach erwähnt, konzentrieren sich die Fasern der genannten Kerngebiete sämtlich in einem lateralen lockeren Geflecht, welches sich in Höhe des ventralen Thalamus in caudaler Richtung ausdehnt. Kurz vor dem Tuberculum posterius wenden sich die Fasern nach ventral in die lateralen Teile der Pars ventralis thalami und schließlich — sich immer stärker zu einem Bündel zusammenschließend — bogenförmig etwas nach vorn. Von hier aus treten die Fasern in den letzten Abschnitt der Commissura praeinfundibularis ein, überkreuzen sich hier teilweise und gelangen schließlich in die Neurohypophyse (Abb. 1c, 12).

Aus diesen Verhältnissen erhellt aber auch die Diskrepanz zwischen der starken Sekretanhäufung in der Neurophyse und dem auffallend spärlichen Sekrettransport im Tractus praeoptico-infundibularis bzw. hypophyseus.

Der hintere Abschnitt des Hypothalamusbodens stellt das eigentliche Infundibulum dar. Dieser Abschnitt hat ein Gliagewebe aus wesentlich höheren Ependymzellen, die sich mit dicken palisadenartigen Fortsätzen mit der meningealen Oberfläche verbinden (Abb. 16c). Ventral liegt dem Infundibulum die Meta-

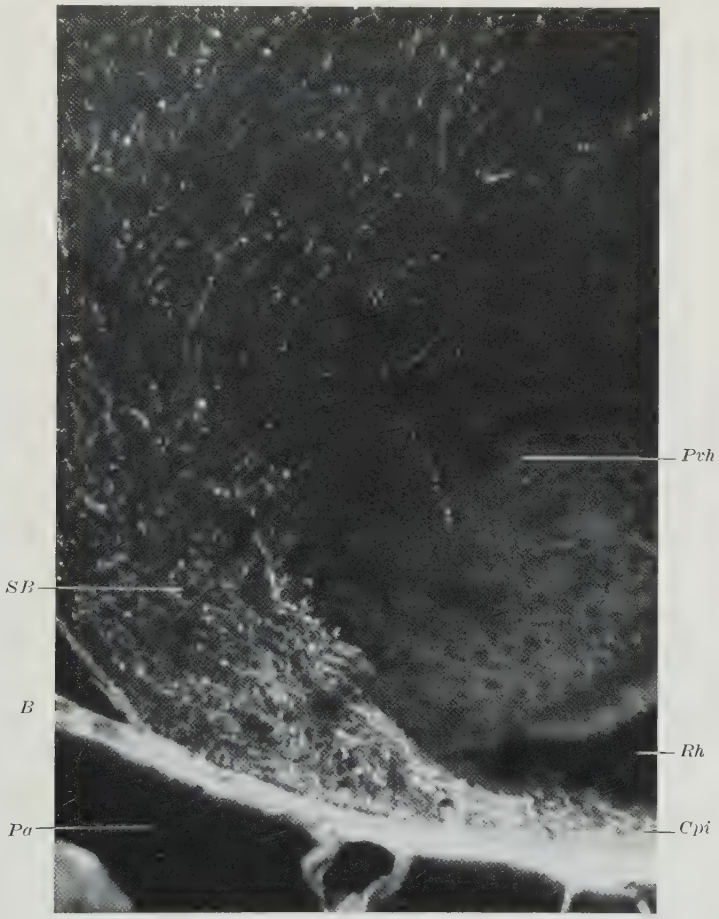

Abb. 12. Querschnitt durch den Hypothalamus eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)* in Höhe der Einmündung der neurosekretorischen Sammelbahn in die Commissura praeinfundibularis. *B* Bindegewebsschicht zwischen der Commissura praeinfundibularis und der Proadenohypophyse *(Pa)*; *Cpi* Commissura praeinfundibularis; *Pvh* Pars ventralis hypothalami; *Rh* Recessus hypothalamicus; *SB* Sammelbahn sekretführender Neuriten aus dem Nucleus praeopticus, Corpus striatum und Pars ventralis thalami. Pseudoisocyaninchlorid. Filter UG 1/1,5, GG 11. Verg. 250fach

adenohypophyse teils direkt, teils durch Kapillaren getrennt, an (Bargmann 1953, Adam 1956, Kamer und Schreurs 1959, Lanzing 1959, Abb. 13—15). In diesem als Neurohypophyse der Neunaugen gedeuteten Abschnitt bilden die Fasern ein sehr dichtes Geflecht (Abb. 16). Ob die positiv reagierende Substanz hier stets an Nervenfasern gebunden ist, läßt sich weder an Chromhämatoxylin-, Paraldehydfuchsin- noch Pseudoisocyanin-Präparaten entscheiden (vgl. S. 784).

Nach Kamer und Schreurs (1959) soll das Sekret in der Neurohypophyse während der Larvenzeit gespeichert werden und mit Beginn der Metamorphose

Abb. 13. Querschnitt durch die Neurohypophyse einer 9 cm langen Bachneunaugenlarve (*Lampetra planeri* BLOCH). *Mah* Metaadenohypophyse; *Nh* Neurohypophyse; *Pvh* Pars ventralis hypothalami; *Rnh* Recessus neurohypophyseus. Pseudoisocyaninchlorid, Filter UG 1/1,5, GG 9. Vergr. 230fach

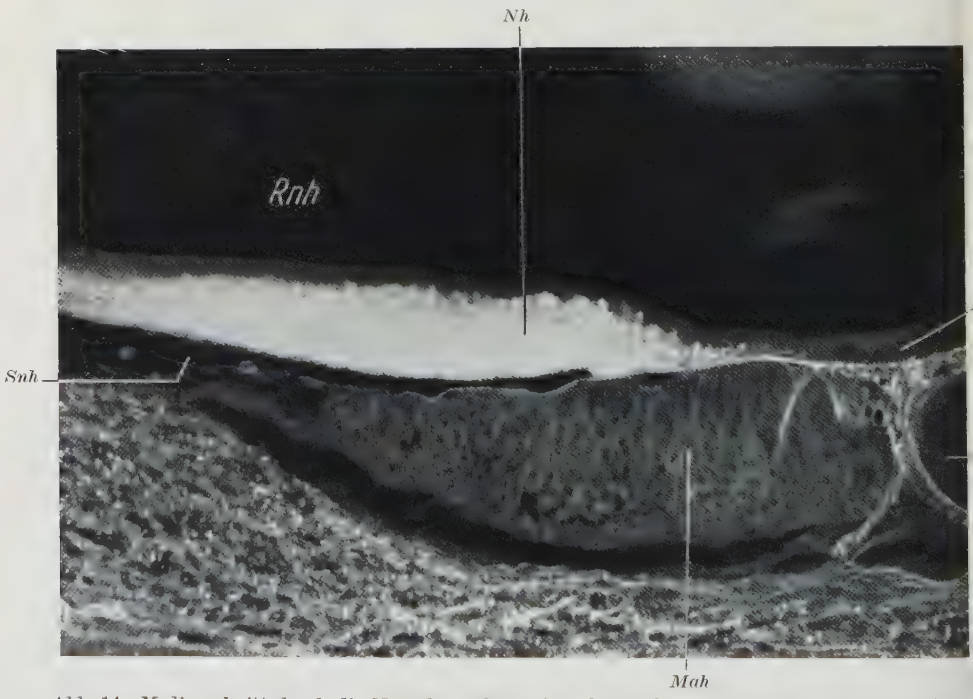

Abb. 14. Medianschnitt durch die Neurohypophyse einer 8,5 cm langen Bachneunaugenlarve (*Lampetra planeri*). *Cpi* Commissura praeinfundibularis; *Msah* Mesoadenohypophyse; *Snh* Sinus neurohypophyseus, der sich mit gefäßartigen Fortsätzen zwischen die Neurohypophyse und Metaadenohypophyse drängt. Sonstige Hinweise wie bei der Abb. 13

sukzessive mengenmäßig abnehmen. Es sei besonders betont, daß diese Angabe nicht zutrifft. Die Neurosekretmenge in der Neurohypophyse ist bis zum Tode nicht verringert (Abb. 14—15). Selbst nach dem Abbau der Metaadenohypophyse in der Laichzeit sind in der Neurohypophyse große Sekretmengen vorhanden.

Kurz sei erwähnt, daß die Ependymzellen der Neurohypophyse lange Geißeln besitzen, die, wie bereits TRETJAKOFF (1909) beobachtete, im 3. Ventrikel eine kräftige Zirkulation auslösen. Ganz vereinzelte sekretführende Fasern wurden

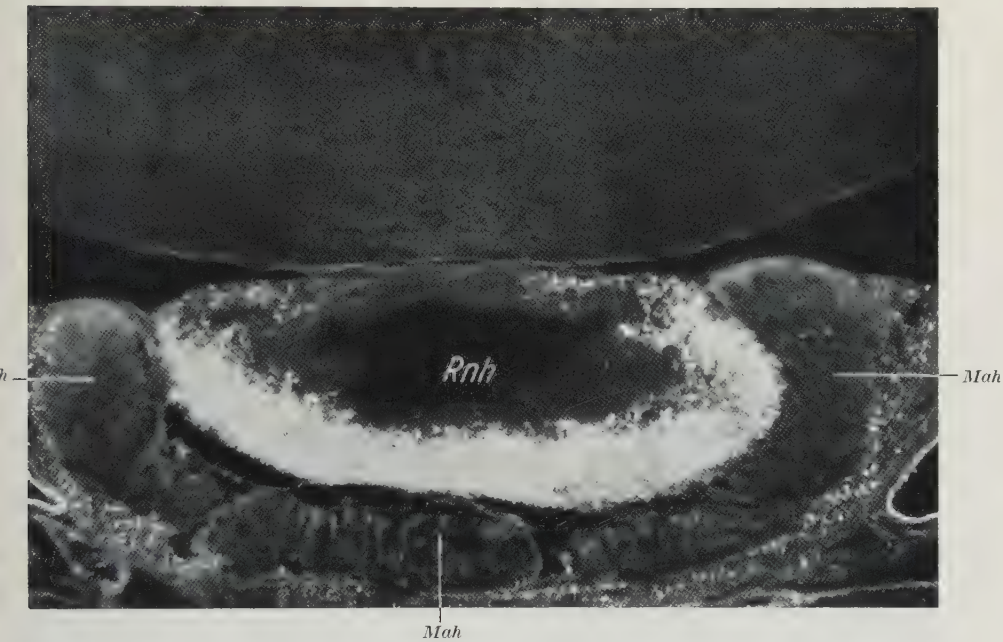

Abb. 15. Querschnitt durch das Kaudalende der Neurohypophyse eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*. Alle Hinweise wie bei Abb. 13

auch in den Wänden des Recessus posterius gefunden; sie konnten bis zur Neurohypophyse verfolgt werden.

Fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen über die Sekretbildung und den Sekrettransport

Zu den Fragen der Sekretbildung und der Art und Weise des Sekrettransportes erlauben die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen am vorliegenden Objekt folgende Aussagen:

Wie breits TRETJAKOFF (1909), HEIER (1948) u. a. betonen, sind die Nervenzellen des zentralen Systems der Petromyzonten im Vergleich mit denjenigen der Gnathostomen relativ primitiv. In besonderem Maße gilt dies für das Tel- und Diencephalon, wo diese Ursprünglichkeit bereits durch fast uniforme Zellgröße und Zellgestalt in den verschiedenen Kerngebieten angedeutet ist. Aber auch die Integration der Kerngebiete bleibt unvollkommen, ganz abgesehen davon, daß sie erst kurz vor der Metamorphose abgeschlossen wird. Deutlicher Ausdruck

dafür sind die zahlreichen, in den Anfangsteil der jeweiligen efferenten Bahnen eingestreuten Zellen, ferner bei ventrikelnahen Kerngebieten die im Ependym verbleibenden Neurone.

Die Nervenzellen neurosekretorisch tätiger Kerngebiete sind wie die meisten Neurone des Zentralnervensystems der Petromyzonten spindelförmig gestaltet (Abb. 4). Der häufig nur in der Einzahl vorhandene Dendrit verläuft ventrikelwärts und verästelt sich im Stratum album periventriculare. Die meisten Dendritenäste verbreiten sich hier; ein einzelner kurzer Fortsatz dringt zwischen den Ependymzellen bis zum Ventrikellumen vor (Abb. 4c u. d). Die Neuriten streben den oberflächennahen Gebieten des Gehirns zu und bilden zahlreiche Kollateralen. Die Anfangsteile der Neuriten sind meist gestreckt (Abb. 4, 7, 8), die peripheren Teile stark gewunden. Der angegebene Grundtypus ist in den einzelnen Kerngebieten des Tel- und Diencephalon nur wenig abgewandelt.

Diese Verhältnisse erfordern nicht nur bei vergleichenden Betrachtungen, sondern auch bei der folgenden speziellen Besprechung der neurosekretorischen Zellen der Petromyzonten besondere Berücksichtigung.

Die Nervenzellen neurosekretorisch tätiger Kerngebiete von Neunaugen unterscheiden sich hinsichtlich Größe und Form nicht von Neuronen benachbarter, nicht sekretorisch tätiger Gruppen. Aber auch bezüglich der Variationsbreite der Kernvolumina sind im histologischen Präparat keine Unterschiede zwischen neurosekretorisch tätigen und normalen Neuronen festzustellen. Weder licht- noch fluoreszenzmikroskopisch sind geringste Anzeichen einer Beteiligung des Kerns an der Sekretbildung zu erkennen, wie sie besonders von Scharrer (1936) und Hild (1950) bei *Tinca tinca* beobachtet wurden. Mazzi (1952) stellte bei *Petromyzon marinus* eine der Sekretbildung vorausgehende Vakuolisierung im peripheren Zytoplasma fest und nimmt an, daß das Sekret unter Beteiligung der „chromophilen Substanz" gebildet wird. Bei *Lampetra planeri* gestattet die Kleinheit der Zellen keine einwandfreie Entscheidung über die Bindung der Sekretbildung an bestimmte Zellstrukturen. Bei fluoreszenzmikroskopischer Beobachtung lassen sich in Zellen mit wenig Sekret feinste granuläre Elemente vorwiegend an der Zellperipherie (Abb. 4d), in stark gefüllten Zellen kleine und große granuläre bis schollige Elemente allenthalben im Zytoplasma feststellen (Abb. 4c). Betonenswert ist neben dieser lichtmikroskopisch schon lange bekannten Sekretgruppierung (vgl. Scharrer 1953) folgende Erscheinung: Bei zahlreichen Zellen, besonders aber den neurosekretorisch tätigen Neuronen im Thalamus, kann man in der unmittelbaren Umgebung des Perikaryons positivreagierendes Material in Form feinster Granula feststellen (Abb. 4b). Einwandfrei beobachtbar sind diese perizellulären Substanzen vor allem dort, wo sich die Zelle durch leichte Schrumpfung von ihrer Umgebung gelöst hat. Die Annahme liegt nahe, daß um diese Zellen feinste Dendriten anderer neurosekretorischer Zellen ein körbchenähnliches Geflecht bilden, d.h. daß morphologische Verhältnisse vorliegen, wie sie z.B. aus dem Cerebellum bekannt sind.

Sekret läßt sich bei Neunaugen weiterhin sowohl in den Dendriten als auch in den Neuriten feststellen, ein Befund, der schon von Roth (1956), Ozton und Gorbmann (1960a, b) erhoben wurde. Zunächst ist jedoch darauf hinzuweisen, daß die Dendriten und Neuriten fluoreszenzmikroskopisch als kontinuierlich leuchtende Fasern zu beobachten sind, die ganze Faser zeigt eine Sekundär-

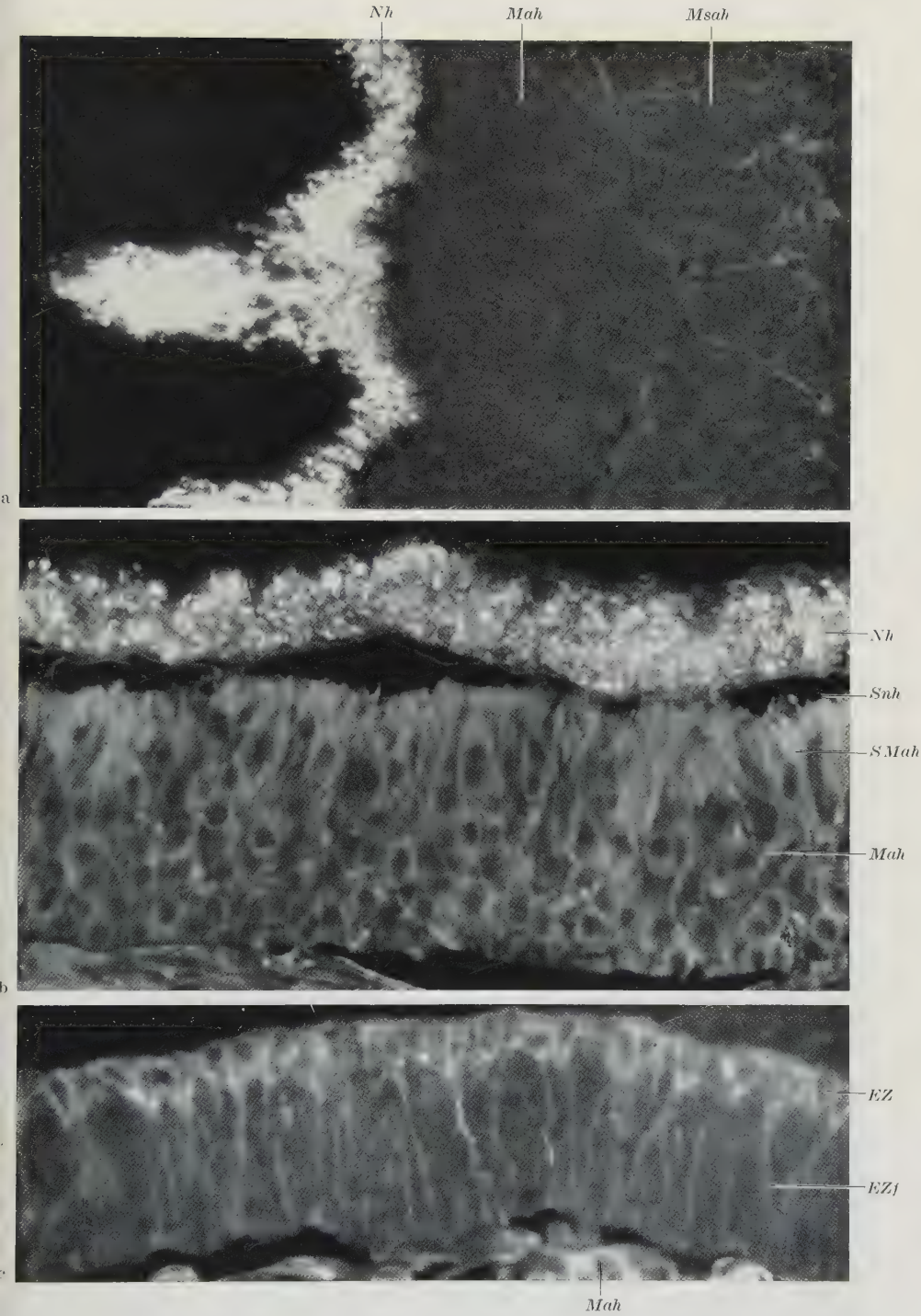

Abb. 16. a Schrägschnitt durch die Adeno- und Neurohypophyse eines imaginalen Bachneunauges *(Lampetra planeri)*, 250fach. b Querschnitt durch die Metaadenohypophyse und Neurohypophyse eines metamorphosierenden Bachneunauges; 600fach. c Querschnitt durch die Neurohypophyse nach Löschung der Sekundärfluoreszenz des Neurosekretes. *EZ* Körper der Ependymzellen; *EZf* Fortsätze der Ependymzellen, zwischen denen die sekretführenden Neuriten enden; *Mah* Metaadenohypophyse; *Msah* Mesoadenohypophyse; *Nh* Neurohypophyse; *SMah* schwach metachromatisch reagierendes Sekret der Metaadenohypophyse; *Snh* Fortsätze des Sinus neurohypophyseus. Pseudoisocyaninchlorid. Filter UG 1/1,5, GG 11

fluoreszenz, nicht etwa nur Verdickungen oder bestimmte Granula (Abb. 17). Es steht außer Zweifel, daß das positiv reagierende Sekret überall in der Faser vorhanden ist und das die von Bargmann und Knoop (1957) für die Endigungen der marklosen Nervenfasern in der Neurohypophyse beschriebenen, elektronenmikroskopisch darstellbaren feinen Granula in allen Teilen der Zelle anzutreffen sind. Diese werden selbstredend im Fluoreszenzmikroskop nicht aufgelöst, bedingen aber in ihrer Gesamtheit die Fluoreszenz der Fasern.

In dieser generellen Grundfluoreszenz der marklosen Fasern sind zahlreiche kompaktere, dadurch stärker aufleuchtende Elemente eingestreut, deren Größe vom eben auflösbaren Granulum bis zu den Perlschnurknoten (Abb. 17) und echten Herring-Körpern (Abb. 17a) reicht. Auch die Anzahl dieser Elemente pro Längeneinheit ist außerodentlich verschieden. Im allgemeinen liegen diese in den Neuriten jedoch dichter gepackt als in den Dendriten und Kollateralen der Neuriten.

Sehr eigenartig ist die Verbindung der meisten neurosekretorischen Zellen zum Ventrikel (Abb. 4d). Je nachdem, ob die Zelle im Kerngebiet selbst oder im Ependym liegt (s. S. 766), ist dieser besondere Dendrit lang oder kurz. Die langen Dendriten gehen in der Regel in das Stratum album periventriculare Äste ab, die sich in dieser Schicht ausbreiten (Abb. 3). Die Faser zum Ventrikellumen drängt sich zwischen den Ependymzellen hindurch und endet mit einem stark positiv reagierenden Pfropf (Abb. 4d, 10). Ob dieser auffällige Pfropf durch Kontraktion einer in den Ventrikel ragenden freien Dendritenendigung erst bei der Fixierung entsteht oder aber morphologischer Ausdruck einer Sekretabgabe ist, kann nicht sicher entschieden werden. Im fixierten Niederschlag der Ventrikelflüssigkeit sind andererseits zahlreiche positiv reagierende Granula festzustellen, die nach Größe und Form solchen Sekretpfropfen entsprechen (Abb. 8).

In diesem Zusammenhang interessieren vor allem die Untersuchungen von Mazzi (1952) und Hild (1951). Mazzi beobachtete bei *Scyliorhinus* gomoripositives Sekret auch in den Dendriten des Nucleus praeopticus und nimmt an, daß so ein Transport in den Liquor cerebrospinalis ermöglicht wird. Hild (1951) konnte vor allem bei Anuren eine an besondere Zellen des Nucleus magnocellularis praeopticus gebundene Sekretabgabe feststellen. Diese Zellen schütten durch einen Riß in der Zellwand das gomoripositive Sekret aus, das dann in diffuser Verteilung gegen den Ventrikel hin verlagert wird. Auch das gomorinegative Sekret im Nucleus lateralis tuberis der Schleie (Scharrer 1936) soll nach Hild (1950) in den Liquor abgeleitet werden. Eine etwas abweichende Verbindung zum Ventrikel zeigen die auf S. 772 erwähnten Zellen im hinteren Abschnitt des Pars ventralis thalami und den Wänden des Infundibulum (Abb. 10). Diese Zellen sind stets etwas kleiner und sehr zytoplasmaarm. Der Neurit tritt meist seitlich aus dem Zellkörper aus. Der sehr dicke, sich nicht verästelnde Dendrit drängt sich zwischen die Ependymzellen, wird plötzlich sehr fein und endet mit einem deutlichen Sekretpfropf.

Bezüglich des Sekretgehaltes der Neuriten ist dem weiter oben Gesagten nichts hinzuzufügen. Die Neuriten selbst erreichen einzeln oder aber auch zeitweise gebündelt (Abb. 17c) ihren Bestimmungsort. Durch die zahlreichen Kollateralen stehen die Neuriten vielfach miteinander in Verbindung (Abb. 17d).

In der Neurohypophyse auch von Lampetra laufen die Endstücke der Neuriten so stark durcheinander, daß sie einzeln nicht mehr verfolgt werden können (Abb. 16). Wie Mazzi (1952), Scharrer (1953), Bargmann (1953), Adam (1956),

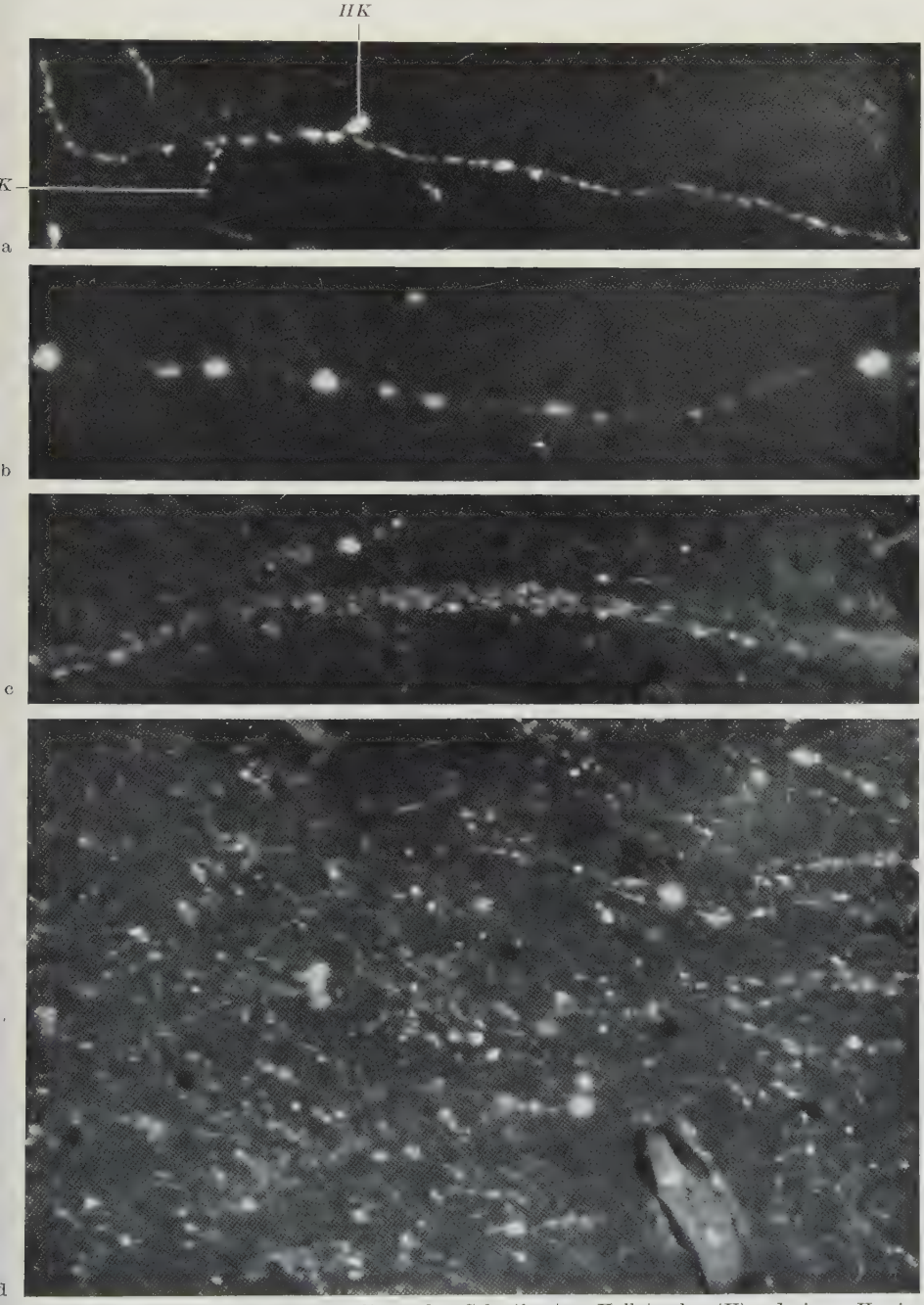

Abb. 17. a Neurit mit zahlreichen mäßig großen Sekretknoten, Kollateralen (*K*) und einem Herring-Körper (*HK*). b Neurit mit wenigen, sehr großen Sekretknoten (Perlschnurfaser). c Neuritenbündel. d Geflecht aus Neuriten und Kollateralen mit verschiedenem Sekretgehalt

Kamer und Schreurs (1959) zeigen konnten, besteht die sog. Neurohypophyse der Petromyzonten nur aus Ependymzellen, die basal direkt den Meningen aufsitzen. Die Zellen selbst sind apikal zwiebelförmig erweitert und hier deshalb dicht aneinandergefügt. Diese verdickten, den Kern einschließenden Teile setzten sich basal in stark verjüngte lange Zellabschnitte fort, die palisadenartig auf der Meninx stehen (Abb. 16c). Zwischen diesen Palisaden breiten sich die Fasern aus. Bargmann und Knoop (1957) konnten elektronenmikroskopisch feststellen, daß

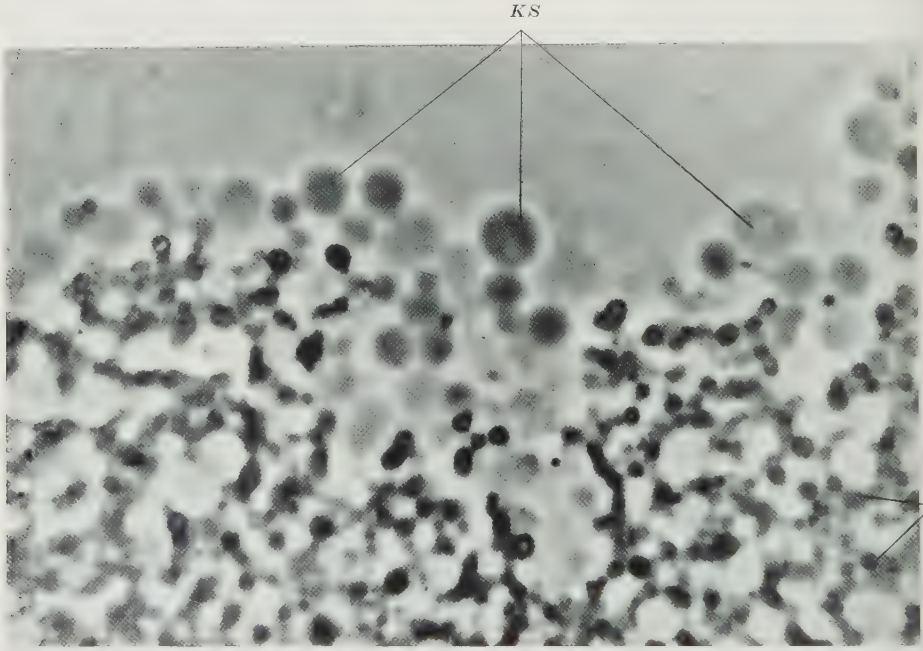

Abb. 18. Supravitales Präparat der durch leichten Druck auf die isolierte Neurohypophyse austretenden Sekrete. *KS* große, transparente Sekretkugeln, die sich nicht fixieren lassen; *NS* Neurosekretgranula-Phasenkontrastaufnahme. Vergr. 500fach

die Endabschnitte der marklosen Fasern in der Neurohypophyse von Hund und Katze zahlreiche feinste Neurosekretgranula, aber auch Mitochondrien einschließen.

Bei *Lampetra* gelingt eine Isolierung der Neurohypophyse, die dann an Zupfpräparaten untersucht werden kann, besonders leicht. Darüber hinaus ist es möglich, die gleichen isolierten Endstücke zunächst supravital und später im Präparat zu beobachten. Im Zupfpräparat (NaCl — 0,59%) lassen sich sowohl bei Phasenkontrast-, besonders aber bei Dunkelfeldbeobachtungen folgende Einzelheiten feststellen: Die schon bei der Präparation sichtbare, diese sehr erleichternde zart grünliche Opaleszenz ist durch zahlreiche, 2—5 μ große granuläre Einheiten bedingt, die das ganze Organ dicht gepackt erfüllen. Durch ganz leichten Deckglasdruck treten aus dem intakten Organ zunächst große Vakuolen und anschließend die granulären Elemente aus (Abb. 18). Die Ependymzellen und Nervenfasern bleiben unverändert zurück. Aus Zupfpräparaten lassen sich die beiden Elemente leicht ausspülen. Die großen Sekretvakuolen lösen sich in 0,59% isotonischer Kochsalzlösung schnell auf, die granulären Elemente sind in

Alkohol, Essigsäure oder Wasser nicht lösbar. An den Fasern selbst bleiben nur ganz wenige granuläre Elemente haften. Fixiert man eine solche Faser und färbt man sie mit Chromhämatoxylin oder führt man die Pseudoisocyaninreaktion durch, so fällt auf, daß statt der großen Einheiten winzige Granula positiv reagieren. Diese kurzen Hinweise auf laufende Untersuchungen, die sich speziell mit supravitalen Beobachtungen an neurosekretorischen Elementen befassen, sollen hier nur die Feststellung ermöglichen, daß die im Präparat sichtbaren Strukturen nur bedingte Rückschlüsse erlauben. So ist es vermutlich gar nicht gerechtfertigt, im fixierten Präparat nach Struktureinheiten zu suchen, die einen Übertritt des Sekretes in die Kapillaren beweisen (z.B. Hanström 1954), da dieses, wie auch Brettschneider (1958) betont, die Gefäßwand nur in flüssigem Zustand passieren kann.

Bei dem vorliegenden Objekt ist in der Neurohypophyse sicher eine Teil des Sekretes von den Nervenfasern gelöst. Über die Beziehung der Neurohypophyse und Metaadenohypophyse bei Neunaugen sind schon bei Bargmann (1953) Hinweise vorhanden. Einzelheiten haben Kamer und Schreurs (1959) mitgeteilt. Bemerkt sei, daß das Sekret der Metaadenohypophyse mit Pseudoisocyanin schwach metachromatisch reagiert (Abb. 16b).

Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen beschränken sich ausschließlich auf jenes System, für das folgende Besonderheiten charakteristisch sind: Darstellbarkeit des Sekrets mit Gomoris Chromhämatoxylin-Phloxinmethode, Transport des Sekretes entlang von Nervenzellfortsätzen, direkte oder indirekte Beziehung zur Neurohypophyse.

Folgende Ergebnisse sind besonders hervorzuheben.

1. Die metachromatische Reaktion des Neurosekretes mit Pseudoisocyaninen und seine Darstellbarkeit im Fluoreszenzmikroskop.

2. Das Vorkommen sekretorischer Nervenzellen mit gomori- und pseudoisocyanin-positivem Sekret in mehreren Kerngebieten der Tel-, Di- und Mesencephalon.

3. Die Verbindung sekretführender Dendriten zum dritten Ventrikel und zu fast allen Kerngebieten des Tel- und Diencephalon, sowie das Vordringen einiger Neuriten in das Mes- und Rhombencephalon.

4. Die Vielzahl der Verbindungen zur Neurohypophyse.

Zu 1. Schiebler und Schiessler (1959) haben sich in der Diskussion ihrer Untersuchungen sehr eingehend mit den Ursachen der metachromatischen Reaktion von Insulin mit Pseudoisocyanin beschäftigt. Es ist durchaus wahrscheinlich, daß die Reaktion des Neurosekretes gleiche Ursachen hat. Hinweise auf die Richtigkeit dieser Vorstellung sind durch die Spezifität der Reaktion gegeben. So ist das Auftreten der metachromatischen Reaktion vor allem durch SO_3 Gruppen mit einem Abstand von 4—5 Å begünstigt. Solche Gruppen entstehen wahrscheinlich auch bei der sauren Oxydation von Neurosekret (Schiebler 1958). Oxytocin scheint dabei allerdings nicht beteiligt zu sein, da nach Schiebler und Schiessler (1959) die räumliche Entfernung der SO_3-Gruppen des nach Perameisensäureoxydation entstehenden Produktes zu groß ist. Da andererseits Cystin, Cystein und Glutathion gleichfalls keine positive Reaktion ergeben,

müssen auch im oxydierten Neurosekret ganz spezifische, im einzelnen z. Z. nicht bekannte Verhältnisse vorliegen. Sehr auffällig ist jedoch die Tatsache, daß das Neurosekret des hypothalamischen Systems, das Sekret des Subcommissuralorgans und die Granula der B-Zellen im Inselgewebe sowohl gomori- als auch pseudoisocyaninpositiv sind. Bezüglich weiterer theoretischer Einzelheiten wird auf die Arbeit von Schiebler und Schiessler (1959) verwiesen.

Zu 2—5. Die von Mazzi (1952), Scharrer (1953) und Bargmann (1953) festgestellten, sehr einfachen neurosekretorischen Verhältnisse bei Petromyzonten standen zunächst in gutem Einklang mit der Feststellung von Scharrer (1953), daß hier die Neurohypophyse in einer sehr primitiven Organisationsform vorliegt. Die späteren Untersuchungen von Roth (1956) und vor allem von Oztan und Gorbmann (1960a, b) deuteten an, daß wesentlich kompliziertere Verhältnisse vorliegen müssen. Neben dem Nucleus praeopticus wurden der Nucleus commissurae postopticae bei *Petromyzon marinus* von Roth (1956) und eine Zellgruppe im Recessus posterior bei der gleichen Art von Oztan und Gorbmann (1960a, b) als sekretorisch tätig erkannt. Die Angaben von Roth lassen sich bei *Lampetra planeri* nur bedingt bestätigen. Ob hier ein Artunterschied oder aber Mißverständnisse in der Abgrenzung der einzelnen Kerngebiete vorliegen, kann zunächst nicht entschieden werden. Für das Corpus striatum und die Pars ventralis thalami sind neurosekretorische Elemente bei Neunaugen und anderen Wirbeltieren bislang nicht beschrieben worden. Auch von Gruppen, bei denen diese Kerngebiete ähnlich organisiert sind, wie Myxiniden, Ceratodontiden und Amphibien, ist nichts Ähnliches bekannt.

Die von Oztan und Gorbman (1960a) beschriebene Zellgruppe im Recessus posterior von *Petromyzon marinus* entspricht vermutlich der auf S. 772 erwähnten Konzentration von neurosektorischen Zellen am Vorderende des Nucleus tuberculi posterioris. Es ist durchaus möglich, daß die Lage dieser Ansammlung bei verschiedenen Arten variiert, da die charakteristischen Zellen dieses Komplexes auch vereinzelt im Ependym des ganzen Hypothalamus vorkommen und dort schon von Tretjakoff (1909), Heier (1948), Roth (1956) u.a. beobachtet wurden. Die auf S. 772 beschriebene besondere Form dieser Zellen deutet eine spezielle Funktion an. Cytologisch sind lediglich Hinweise dafür gegeben, daß diese Neurone Sekrete in den Ventrikel abgeben, die sie von anderen Zellen erhalten. Nach Oztan und Gorbman (1960a, b) zeigen diese Zellen im Gegensatz zu anderen neurosekretorisch tätigen keine Abhängigkeit der Sekretion von der Beleuchtungsperiodizität. Schließlich ist bemerkenswert, daß bei *Lampetra planeri* die Zellen besonders dort gehäuft auftreten, wo die vom Geißelependym des Infundibulum in Zirkulation gehaltene Ventrikelflüssigkeit den Hypothalamusbereich verläßt. Alle hier ausgestoßenen Sekrete werden so in andere Ventrikelräume transportiert. Schließlich ist noch das Auftreten neurosekretorischer Zellen im Tectum opticum bemerkenswert. Da diese Zellen erst nach der Metamorphose, d.h. erst nach dem Durchbruch der Augen auftreten, kann man einen funktionellen Zusammenhang annehmen. Sekretorische Mittelhirnzentren anderer Lokalisation sind auch bei Cypriniden und Amphibien beschrieben worden (Scharrer 1932, Mazzi 1948, Stutinsky 1937). Nach Young (1935) wird die tagesperiodische Dunkel-Hellfärbung larvaler Petromyzonten von der Epiphyse unter Einschaltung der Hypophyse gesteuert. Es ist möglich, daß nach Durch-

bruch der Augen ein Funktionswechsel einsetzt, in den die neurosekretorischen Zellen des Tectum opticum eingeschaltet sind.

Schwierig zu interpretieren sind vor allem die unerwartet vielseitigen Verbindungen der neurosekretorischen Zellen. Wie auf S. 766 dargestellt, verbreiten sich die sekretführenden Dendriten des Nucleus praeopticus, Corpus striatum und Pars ventralis thalami im ganzen Tel- und Diencephalon, d.h. sie haben Kontakt mit fast allen Kerngebieten dieser Hirnteile. Andererseits besitzen die meisten neurosekretorischen Zellen eine sekretführende Dendritenverbindung zum Ventrikellumen. Sekrettransport entlang von Nervenzellfortsätzen in den Ventrikel wurde unter anderem von Roth (1956) und Oztan und Gorbman (1960a) für *Petromyzon marinus*, von Mazzi (1952) für *Scyliorhynus* beschrieben. Während diese Verbindungen zum Liquor durchaus als primitiv im phylogenetischen Sinne bezeichnet werden können, ist die vielseitige Bezugnahme zu anderen Kerngebieten schwieriger zu verstehen. In erster Linie wäre daran zu denken, daß hier eine spezielle Anpassung an die äußerst geringe Gefäßversorgung des Gehirns vorliegt. Während die dichten Kapillarnetze bei höheren Formen eine schnelle Wechselwirkung auf dem Blutwege gewährleisten, ist bei Petromyzonten diese Möglichkeit zumindest im Bereiche des Zentralnervensystems nicht gegeben. In zweiter Linie wäre zu fragen, ob nicht die relativ grobe Methodik bislang eine Beobachtung dieses feinen Bezugssystems bei anderen Gruppen verhinderte. Nach Scharrer (1953) ist es durchaus wahrscheinlich, daß die Chromhämatoxylin-Phloxin-Färbung erst von einer gewissen Substanzkonzentration an eindeutig positive Resultate liefert. Die Berechtigung solcher Überlegungen wird im vorliegenden Fall besonders dadurch demonstriert, daß dieses Bezugssystem der Dendriten trotz mehrfacher Untersuchungen an Petromyzonten nicht bekannt war.

Gleichermaßen interessant ist natürlich die Verbindung sekretführender Neuriten zum Mittel- und Nachhirn und die Änderung, die diese Bahnen in der Metamorphose erfahren. Auch diese Beziehungen zu caudalen Hirnabschnitten sind nichts anderes als Teile eines sehr weitreichenden spezifischen neurosekretorischen Bezugsgefüges.

Sollten sich allerdings bei anderen Wirbeltiergruppen mit Hilfe der verfeinerten Methodik ähnliche weitreichende Beziehungen aufzeigen lassen, so wäre die Interpretation des Systems in mancher Hinsicht wesentlich zu erweitern.

Es wird hier im augenblicklichen Stand der Untersuchungen absichtlich auf eine Diskussion folgender Fragen verzichtet: Orte der Sekretproduktion und Form der Ableitung in den Zellfortsätzen, spezielle Verhältnisse der Neurohypophyse und Bezug zur benachbarten Metaadenohypophyse, Art und Funktion der Substanz, deren Oxydationsprodukt mit Pseudoisocyanin positiv reagiert.

Zusammenfassung

1. Das mit Gomoris Chromhämatoxylin-Phloxin anfärbbare Neurosekret von *Lampetra planeri* reagiert nach saurer Oxydation mit NN'-Diäthylpseudoisocyaninchlorid auf Grund einer Polymerisation des Farbstoffes metachromatisch. Orte der Polymerisation sind die durch die Oxydation aus Disulfidbrücken entstehenden SO_3-Gruppen mit bestimmtem räumlichem Abstand. Polymeres

Pseudoisocyaninchlorid zeigt im Fluoreszenzmikroskop eine sehr kräftige gelbe Sekundärfluoreszenz.

2. Mit der Pseudoisocyaninreaktion lassen sich bei fluoreszenzmikroskopischer Auswertung Neurosekretspuren deutlich nachweisen, die mit Gomoris Chromhämatoxylin oder Paraldehydfuchsin nach Gabe nicht mehr erfaßt werden.

3. Bei *Lampetra planeri* kommen neurosekretorische Zellen im Nucleus praeopticus, Corpus striatum, in der Pars ventralis thalami und nach der Metamorphose auch im Tectum opticum vor. Außerdem sind unter und im Ependym des Hypothalamus, besonders konzentriert aber vor dem Nucleus tuberculi posterioris, sekrethaltige Zellen zu finden.

4. Die sekretführenden Dendriten der genannten Kerngebiete verbreiten sich fast im ganzen Tel- und Diencephalon, mit Ausnahme der Habenularganglien. Fast alle Zellen besitzen einen Dendriten, der direkt zum Ventrikel verläuft und Sekrete in den Liquor abgibt.

Die Neuriten gelangen auf verschiedenen Wegen über die Commissura praeinfundibularis in das Infundibulum. Einige Neuriten dringen in das Mes- und Rhombencephalon ein.

5. Das Sekretdepot in der Neurohypophyse ist sowohl bei Larven als auch bei Imagines unverändert stark gefüllt. Die Pseudoisocyaninreaktion gibt keine Hinweise auf die Ableitung der Sekrete in die Blutbahn. Oxytocin wird durch die Reaktion vermutlich nicht erfaßt.

Literatur

Adam, H.: Der III. Ventrikel und die mikroskopische Struktur seiner Wände bei Lampetra (Petromyzon) fluviatilis L. und Myxine glutinosa L., nebst einigen Bemerkungen über das Infundibularorgan von Branchiostoma (Amphioxus) lanzeolatus Pall. Progress in Neurobiology. Proc. of the first Internat. Meeting of Neurobiologists. Groningen 1955, p. 146—158. Amsterdam: Elsevier 1956.

— Hypophyse und hypothalamo-neurohypophysäres Neurosekretsystem bei den Cyclostomen Myxine glutinosa und Bdellostoma stouti. Zool. Anz. Suppl. **23**, 157—171 (1960).

Bargmann, W.: Über das Zwischenhirn-Hypophysensystem von Fischen. Z. Zellforsch. **38**, 275—298 (1953).

—, u. A. Knoop: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an der Neurohypophyse. Z. Zellforsch. **46**, 242—251 (1957).

Brettschneider, H.: Die Feinstruktur des nervösen Parenchyms von Infundibulum und Neurohypophyse. Z. mikr.-anat. Forsch. **64** (1958).

Hanström, B.: The neurohypophysis in the series of mammals. Pubbl. Staz. zool. Napoli Suppl. **24**, 18—20 (1954).

Heier, P.: Fundamental principles in the structure of the brain. A study of the brain of Petromyzon fluviatilis. Acta anat. (Basel) Suppl. **8**, 1—213 (1948).

Hild, W.: Zur Frage der Neurosekretion im Zwischenhirn der Schleie (Tinca vulgaris) und ihrer Beziehungen zur Neurohypophyse. Z. Zellforsch. **35**, 33—46 (1950/51).
Vergleichende Untersuchungen über Neurosekretion im Zwischenhirn von Amphibien und Reptilien. Z. Anat. **115**, 459—479 (1951).

Kamer, J. C. van de, and A. F. Schreurs: The pituitary gland of the brook lamprey (Lampetra planeri) before, during and after metamorphosis. (A preliminary, qualitative investigation). Z. Zellforsch. **49**, 605—630 (1959).

Lanzing, W. J. R.: Studies on the River Lamprey, Lampetra fluviatilis, during its anadromous migration. Uitgeversmaatschappij Neerlandia-Utrecht 1959.

Mazzi, V.: Peculiari riassestamenti della sostanza cromofila con caratteri neurosecretori nelle cellule del nucleo della radice mesencefalica del trigemino del Tritone crestato. Rend. Accad. naz. Lincei, Ser. VIII **4**, 109—115 (1948).

Mazzi V.: I fenomeni neurosecretori nel nucleo magnocellulare preottico dei selaci e dei ciclostomi. Rv. Biol., N. s. **44**, 429—449 (1952).

Oztan, N., and A. Gorbman: Respinsoveness of the neurosecretory system of larval lampreys (Petromyzon marinus) to light. Nature (Lond.) **186**, 167—168 (1960a).

— — The hypophysis and hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system of larval lampreys and their responses to light. J. Morph. **106**, 243—261 (1960b).

Pickford, G. E., and J. W. Atz: The physiology of the pituitary gland of fishes. New York: New York Zool. Soc. 1957.

Roth, W. D.: Some evolutionary aspects of neurosecretion in the sea lamprey, Petromyzon marinus. Anat. Rec. **124**, 437 (1956).

Scharrer, E.: Secretory cells in the midbrain of the European minnow (Phoxinus laevis L.). J. comp. Neurol. **55**, 573—576 (1932).

— Vergleichende Untersuchungen über die zentralen Anteile des vegetativen Systems. Z. Anat. **106**, 169—192 (1936).

— Das Hypophysen-Zwischenhirnsystem der Wirbeltiere. Anat. Anz. Erg.-H. z. **100**, 5—29 (1953).

Schauer, A., u. G. Scheibe: Über die Verwendung der reversibel polymeren Metachromasie von Pseudoisocyanin zur Gewebsfärbung. Histochemie **1**, 190—195 (1959).

Scheibe, G., u. A. Schauer: Über den metachromatischen Effekt des Pseudoisocyanins an histologischen Geweben. S.-B. bayer. Akad. Wiss. **14** (1958).

—, u. V. Zanker: Physiko-Chemische Grundlagen der Metachromasie. Acta histochem. (Jena) Suppl. **1**, 6—35 (1958).

Schiebler, T. H.: Darstellung der B-Zellen in Pankreasinseln und von Neurosekret mit Pseudoisocyanin. Naturwissenschaften **45**, 214 (1958).

—, u. S. Schiessler: Über den Nachweis von Insulin mit den metachromatisch reagierenden Pseudoisocyaninen. Histochemie **1**, 445—465 (1959).

Speidel, C. G.: Further comparative studies in other fishes of cells that are homologous to the large irregular glandular cells in the spinal cord of the skates. J. comp. Neurol. **34**, 303—317 (1922).

Sterba, G.: On the distribution of nerve cells with secretory-like granules in Petromyzontes. Nature (Lond.) (1961, im Druck).

Stutinsky, F.: Inclusions cytoplasmiques dans certains neurones du mésencéphale chez la grenouille aveuglée. C. R. Soc. Biol. (Paris) **124** ,137—139 (1937).

Tretjakoff, D.: Das Nervensystem von Ammocoetes. II. Das Gehirn. Arch. mikr. Anat. **74**, 636—779 (1909).

Young, J. Z.: The photoreceptors of lampreys. II. The functions of the pinealcomplex. J. exp. Biol. **12**, 254—269 (1935).

Prof. Dr. Günther Sterba, Zoologisches Institut der Universität Leipzig

Zeitschrift für Zellforschung 55, 790—809 (1961)

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. h. c. C. Krauspe)

ZUR ULTRAMIKROSKOPISCHEN CYTOLOGIE DER BELEGZELLEN IN DER MAGENSCHLEIMHAUT DES MENSCHEN*

Von

W. Gusek

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Juli 1961)

A. Einleitung

Mit der Entwicklung neuerer Untersuchungsmethoden, wie der Histochemie und Elektronenmikroskopie, ergeben sich erneut Möglichkeiten zur Bearbeitung jener Fragen, die durch das lichtmikroskopische Studium der Magenschleimhaut nicht gelöst werden konnten (Lit. bei Plenk 1932). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur feineren Strukturbestimmung der verschiedenen Magenschleimhautzellen sind in den letzten Jahren begonnen worden (Dalton 1951, Sedar 1955—1959, Challice, Bullivant und Scott 1957, Kurosomi u. a. 1958, Hally 1959, Helander u. Ekholm 1959, Lawn 1960). Es handelt sich bei diesen Untersuchungen ausschließlich um Beobachtungen am tierischen Material, die eine Anzahl interessanter und für funktionelle Erwägungen wesentlicher Befunde ergaben. Im anderen Falle (Sedar 1955—1959, Vial und Orrego 1960) erfolgten sie unter dem Gesichtspunkt der vergleichenden Morphologie an verschiedenen Species. Über Berichte von feinstrukturellen Untersuchungen an der Magenschleimhaut des *Menschen* verfügt jedoch meines Wissens die elektronenmikroskopische Literatur bisher noch nicht.

Diese Tatsache mag auf die Schwierigkeit und in der Regel Unmöglichkeit zurückzuführen sein, an lebendfrisch gewonnenes und -fixiertes menschliches Untersuchungsgut für elektronenmikroskopische Beobachtungen zu gelangen. Magenschleimhaut, die durch Magenresektion erhalten werden kann, erscheint wegen der zu erwartenden ischämischen Schäden ungeeignet. Man kann diese Schwierigkeiten durch Verwendung bioptisch entnommenen Untersuchungsgutes umgehen. In unserem Falle wurde die menschliche Magenschleimhaut mittels der Saugbiopsie nach Mahlo gewonnen, die eine schonende Entnahme unter optimal kurzen Zeitbedingungen gestattet.

Unsere vergleichenden elektronenmikroskopischen Beobachtungen wurden im Rahmen ausgedehnter und noch fortlaufender bioptischer Diagnostik an der menschlichen Magenschleimhaut durchgeführt. Es ist das Ziel derartiger Studien, neue und vielleicht theoretisch wichtige, möglicherweise auch in diagnostischer Hinsicht verwertbare Ergebnisse zur pathologischen Anatomie des Magens zu gewinnen. So ist über erste Befunde insbesondere am atypischen und blastomatösen Magenepithel des Menschen kürzlich berichtet worden (s. Krauspe u. Gusek 1961), einschließlich einer kurzen Beschreibung der Feinstruktur von Oberflächenepithelien, Nebenzellen und indifferenten Epithelzellen.

In der vorliegenden Arbeit berichten wir zunächst über elektronenmikroskopische Befunde an den Belegzellen in den Fundusdrüsen der normalen menschlichen Magenschleimhaut. Die Ergebnisse interessieren einmal im Hinblick auf die

* Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

vergleichende ultramikroskopische Cytologie, zum anderen als Grundlage für weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen an der entzündlichen und blastomatösen Magenschleimhaut. Darüber hinaus ergaben sich Befunde, welche einerseits für Belegzellen noch unbekannt waren und in unserem Untersuchungsgut nur in Belegzellen erhoben werden konnten.

B. Untersuchungsgut und Methode

Entnahme kleiner Magenschleimhautstückchen durch Saugbiopsie nach Mahlo. Die Gewebsstückchen wurden sofort in das Fixierungsmittel gebracht; zwischen Biopsie und Beginn der Fixierung verstrichen in der Regel nicht mehr als 40—50 sec[1]. Ein Teil des gewonnenen Materials wurde für die Routine-Diagnostik in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung erfolgte die Fixierung der Gewebsstückchen auf die Dauer von 3 Std in eiskalter gepufferter (p_H 7,2) OsO_4-Lösung nach Rhodin (1954). Entwässerung über Alkohol und Aceton. Einbettung in ein vorpolymerisiertes Gemisch von Methacrylsäuremethyl- und -butylester (1:3). Polymerisation bei 60° C mit 1% Benzoylperoxyd als Katalysator. Von jedem Gewebsblock wurden 2—3 μ dicke Übersichtsschnitte hergestellt, mit Gallocyanin-Chromalaun und Hämatoxylin-Eosin gefärbt und zunächst ebenfalls lichtmikroskopisch beurteilt. Blöcke mit normaler Korpusschleimhaut wurden für die vorliegende Studie verwendet. Herstellung der Ultradünnschnitte mit einem Ultramikrotom nach Porter-Blum und dem Ultramikrotom der Fa. Ernst Leitz, Wetzlar, nach Fernández-Morán. Elektronenmikroskopische Untersuchung und Herstellung der Aufnahmen mit einem Elmiskop I der Fa. Siemens & Halske, Berlin. Strahlspannung 60 kV bei Kondensor- bzw. Objektivaperturblenden von 200 bzw. 50 μ. Verwendung von Guillemont Electroguil-Photoplatten der Fa. Boespflug & Cie., Paris.

C. Befunde

1. Form, Zellgrenzen und Lagebeziehungen

Das Schnittbild der Belegzellen, das man bei elektronenmikroskopischer Betrachtung der Ultradünnschnitte vorfindet, ist noch mehr als in der Lichtmikroskopie zu einem gewissen Teil abhängig von der Schnittrichtung. Im wesentlichen erscheinen die Zellen jedoch als große pyramidal oder kubisch geformte Elemente (Abb. 2), die mit der breiten Zellbasis der äußeren Drüsenwand aufsitzen. Das Cytoplasma wird von einem etwa 80 Å breiten einschichtigen Plasmalemma allseits umgeben. Der Verlauf der Zellmembran ist keineswegs glatt. Seitlich finden sich unregelmäßige Verzahnungen mit den Nachbarzellen. An der Basis sitzt das Plasmalemma einer etwa 60—100 mμ dicken homogenen Basalmembran auf; es ist hier besonders intensiv und ausgedehnt verzahnt (Abb. 2, 6b). Die Basalmembran (Abb. 2 und 3) bleibt von den Invaginationen unberührt; sie verläuft glatt bzw. leicht gewellt und wird über größere Strecken von Ausläufern der Bindegewebszellen der Lamina propria begleitet.

Im Halsbereich der Fundusdrüsen erreicht die etwas schmalere oder gar spitze Zelloberfläche das Drüsenlumen (Abb. 2). Hier trägt die freie Zelloberfläche wie alle anderen Magenwandzellen mehrere verschieden lange und ungleichmäßig breit ausgebildete Zellausläufer. Die Mikrovilli haben eine Länge bis zu 0,8 μ und eine Breite, die 100 mμ erreichen kann (s. Abb. 2 und 7a; vgl. Dalton 1951, Helander und Ekholm 1959). Es fällt auf, daß die dem Drüsenlumen zugewandte Zellmembran weniger elektronendicht erscheint als das seitliche und

[1] Wir danken Herrn Prof. Dr. Mahlo, Hamburg, für die besondere Sorgfalt bei der Gewinnung des lebendfrischen Untersuchungsgutes.

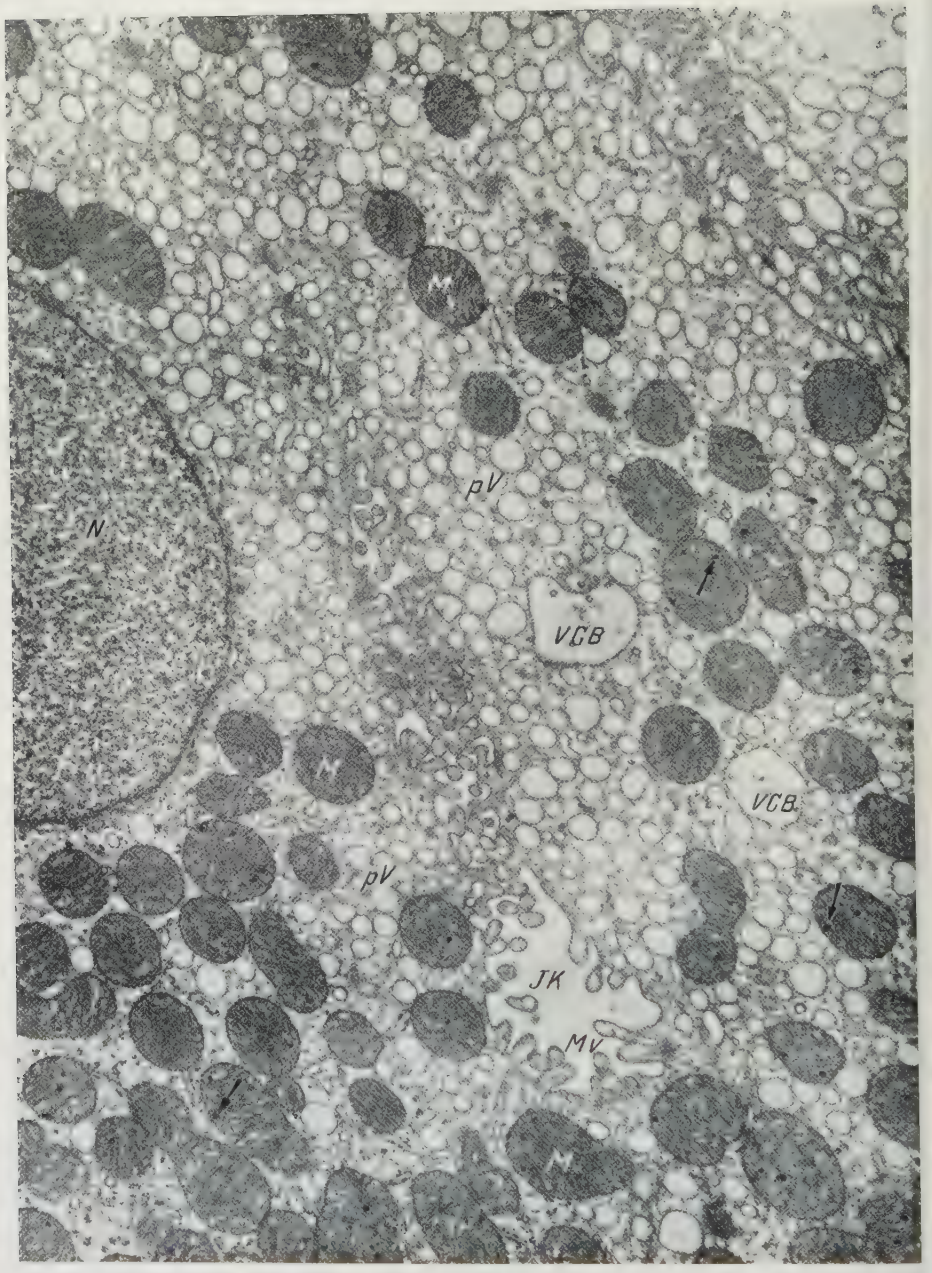

Abb. 1. Ausschnitt einer Belegzelle. *N* Nucleus mit doppelter Kernmembran. Zahlreiche dichte Mitochondrien (*M*) mit dichtstehenden Cristae und kleinen elektronendichten Partikeln (↗). Partiell kollabiertes „intrazelluläres Kanälchen" (*JK*) mit stumpfen Mikrovilli (*Mv*). In der Umgebung des *JK* außerordentlich starke Anhäufung glattwandiger elektronenoptisch leer erscheinender Vakuolen (*pV*) „parakanalikuläres Vakuolensystem", das von Mitochondrien umlagert wird. *VCB* „vacuole containing body". 18000:1

basale Plasmalemm (Abb. 2). Bei abgedrängter Lage wird die Belegzelle entsprechend lichtmikroskopischen Befunden durch intrazelluläre Kanälchen mit dem Drüsenlumen verbunden.

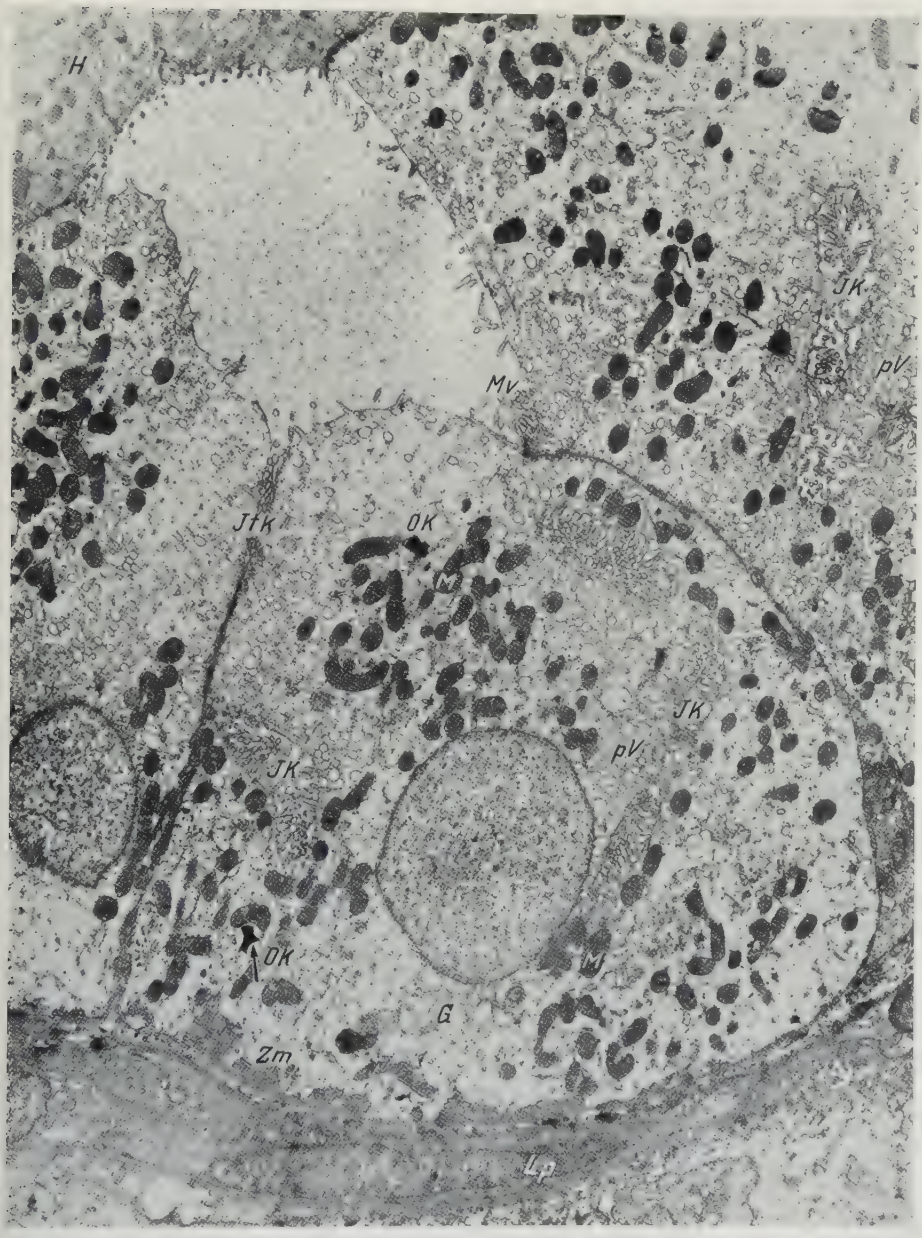

Abb. 2. Belegzellen aus den Hälsen der Korpusdrüsen. Große pyramidale Zellen, welche dem Drüsenlumen anliegen. An der Oberfläche Mikrovilli (*Mv*). Intrazelluläre (*JK*) und interzelluläre Kanälchen (*ItK*). *M* Mitochondrien. *OK* osmiophile Körper. *pV* parakanalikuläres Vakuolensystem. *G* Golgi-Vakuolen. Vielfach gefaltete Zellmembran an der Zellbasis (*Zm*). *Lp* Lamina propria mit Basalmembran. *H Hauptzelle*. 5800:1

2. Der Zellkern

Die Belegzellen enthalten einen meist rundlichen, seltener einen ovalen Nucleus (Abb. 2 und 8), dessen Karyoplasma sich aus etwa 150—200 Å messenden Partikelchen zusammensetzt, die eine lockere, wabig-retikuläre Lagerung auf-

weisen. Der Zellkern erscheint stets sehr hell. Auffällig ist seine glatte Oberfläche. Niemals haben wir Invaginationen oder andere Kernverformungen wie an den anderen Drüsenzellen beobachten können bzw. Unregelmäßigkeiten des „perinucleären Raumes" (s. Watson 1955) festgestellt. Der Abstand der inneren und äußeren Kernmembran war stets mit etwa 200 Å konstant. Nur sehr wenig Kerne der Belegzellen enthielten einen Nucleolus. Die Kernkörperchen sind mittelgroß und immer sehr elektronendicht. Entweder ist ihre Struktur kompakt (Abb. 5a), oder es läßt sich eine grobnetzige Anordnung erkennen (Abb. 8). Der Zellkern wurde immer in der unteren Zellhälfte angetroffen. Vereinzelt beobachteten wir zweikernige Belegzellen.

3. Das Cytoplasma und seine Komponenten

Abgesehen von der äußeren Zellform und der Größe ist die Identifizierung der Belegzellen auch in den Ultradünnschnitten auf Grund noch weiterer Eigenschaften ohne Schwierigkeiten möglich. Ebenso wie das Karyoplasma zeichnet sich auch das Cytoplasma der Belegzellen gegenüber dem anderer Magenschleimhautzellen durch eine geringere Elektronendichte aus (Abb. 2 und 3). Das *Grundplasma* besteht aus sehr weitmaschig gelagerten, äußerst locker und unregelmäßig angeordneten sehr feinen Fädchen und aus feinsten flockigen Niederschlägen. Innerhalb des Grundplasmas finden sich im Mittel 150—200 Å messende *Ribosomen*. Ihre Anordnung ist diffus; sie liegen einzeln oder in kleinen Gruppen, manchmal in rosettenartigen Figuren im Cytoplasma (s. auch Palade 1955). Andererseits liegen sie der äußeren Kernmembran an (Abb. 4 und 5a) oder befinden sich an der Außenseite sehr zarter, unregelmäßig langer Doppelmembransysteme (Abb. 5b, 6a, 6b und 8). Auf diese Weise bilden RNS-Granula und Doppellamellen ergastoplasmatische Strukturen. In selteneren Fällen finden sich auch regelmäßig angeordnete lange typische *Ergastoplasmalamellen* (Abb. 3), wie sie aus eiweißproduzierenden Zellen bekannt und in den Magendrüsen in Haupt- und Schleimzellen zu finden sind. Das kurz- und zartlamelläre Ergastoplasma läßt in den seltensten Fällen (Abb. 3) eine geordnete Lagerung im Cytoplasma erkennen; im allgemeinen ist es unregelmäßig verteilt. Relativ häufig findet es sich jedoch in Nähe der Mitochondrien, denen es sich mehr oder weniger eng anlagert (Abb. 6a und 6b; vgl. Bernhard und Rouiller 1956). Sehr häufig findet man an diesen Berührungsstellen eine unscharfe äußere Grenzmembran der Mitochondrien, oder die Außenmembran ist aufgelöst (Abb. 6a). Eine weitere regelmäßige Komponente des Cytoplasmas ist ein überwiegend sehr feinvesiculäres und glattwandiges Hohlraumsystem, das mit dem *endoplasmatischen Reticulum* (Porter und Palade 1954—1957) zu identifizieren ist (Abb. 5b und 7b). Die Weite der Vesikel wechselt. Außer dem glatt- und rauhwandigen endoplasmatischen Reticulum gibt es in der Nähe der intrazellulären Kanälchen relativ große und glattwandige, im Mittel 250 mμ messende *Vakuolen* (Abb. 1, 2, 3, 4 und 8; vgl; auch Sedar 1955, Challice u.a. 1957, Hally 1959, Lawn 1960).

4. Mitochondrien

Eine weitere Eigenschaft der Belegzellen ist ihr *Reichtum an Mitochondrien* (Abb. 1, 2 und 8). Die Mitochondrien liegen teils vereinzelt, manchmal auch in gruppenartiger Lagerung (Abb. 2). Häufiger befinden sie sich aber entlang den

intrazellulären Kanälchen (Abb. 1, 2 und 8). Auf die topographischen Beziehungen zwischen Mitochondrien und dem kurzlamelligen Ergastoplasma war bereits hingewiesen worden. Diese häufigen Anlagerungen an das Ergastoplasma sind innerhalb jeder Belegzelle zu beobachten. In solchen Fällen weist die Grundsubstanz der Mitochondrien sehr oft vakuoläre Aufhellungen auf (Abb. 6a und b). Im allgemeinen ist die Matrix mitochondrialis jedoch äußerst elektronendicht (Abb. 1, 2 und 5b). Dadurch entsteht ein starker Kontrast gegenüber dem hellen Cytoplasma, und bei schwacher Vergrößerung gewinnen die Belegzellen durch die dichten Mitochondrien einen grobgranulären Aspekt (Abb. 1 und 2). Die Mitochondrien verfügen nicht nur über eine auffallend dichte Matrix; sie enthalten oft kleine sehr dichte 200—300 Å große Granula (Abb. 1). Bemerkenswert ist auch ihre reichliche Ausstattung mit dichtliegenden Cristae mitochondriales (vgl. Challice u. a. 1957, Hally 1959, Lawn 1960), welche die Organellen meist quer, aber auch schräg oder längs durchziehen. Wechselnd sind ferner ihre Form und die Größe. Es finden sich stabförmige, ovale und runde Mitochondrien (Abb. 4), deren Durchmesser im Ultradünnschnitt variiert. Gelegentlich sind sie scharf abgeknickt (Abb. 6b), manchmal hantelförmig eingeschnürt oder verzweigt. Bei engerer Lagerung treten sie untereinander vielfach in direkten Kontakt. Es finden sich enge Berührungen einmal mit der äußeren Kernmembran (Abb. 5a und 8) und mit den größeren endoplasmatischen Vakuolen in Nähe der intrazellulären Kanälchen (Abb. 1, 3 und 8). Außer den im allgemeinen auffallend dichten Mitochondrien fanden sich solche mit granulärer Auflockerung ihrer Membransysteme und Aufhellung der Matrix (Abb. 8). Sie gewinnen dadurch einen geradezu „morschen Aspekt". Mitochondrien dieser Art liegen bevorzugt in Nähe der intrazellulären Kanälchen im Bereich des Vakuolensystems (s. Abb. 8, vgl. weiter unten!). Übergänge derartig veränderter Mitochondrienformen zu lamellär transformierten Mitochondrien oder zu den granulären lipoiden Einschlüssen sind häufig (vgl. Abb. 6 und 7b).

5. Golgi-Apparat

In den meisten Belegzellen fanden wir Komplexe, die dem Golgi-Apparat entsprechen. Er besteht aus glatten dünnwandigen Doppelmembranen, die sich zu kleinen Vesikeln oder größeren Vakuolen erweitern können, und aus einer Anhäufung kleiner Vesikel (Abb. 3, 5b und 6a, vgl. Sedar 1955—1959, Challice u. a. 1957, Lawn 1960). Manchmal wird der Golgi-Apparat überwiegend aus großen plumpen Vakuolen gebildet (Abb. 2, 3 und 4). Eine typische juxtanukleäre Lokalisation des Golgi-Apparates ist nicht obligat; er kann in den verschiedenen Cytoplasmazonen gefunden werden. Die Größe des Golgi-Komplexes wechselt von Zelle zu Zelle.

6. Weitere Zelleinschlüsse

Zahlreiche Belegzellen enthalten *lamellär transformierte Mitochondrien* (Abb. 7b, vgl. Schulz 1958), zirkulär lamellierte oder granuläre Cytosomen (Abb. 3 und 7b; vgl. Schulz 1958) sowie verschieden große sog. *„multivesicular bodies"* bzw. *„vacuole containing bodies"* (Abb. 1, 4, 5a und b). Sie wurden von Rhodin und Dalhamn (1956) im Trachealepithel gefunden und in den Belegzellen der Magenschleimhaut von Hally (1959) und Lawn (1960) beobachtet. Ein sehr häufiger Befund waren darüber hinaus sehr elektronendichte granuläre

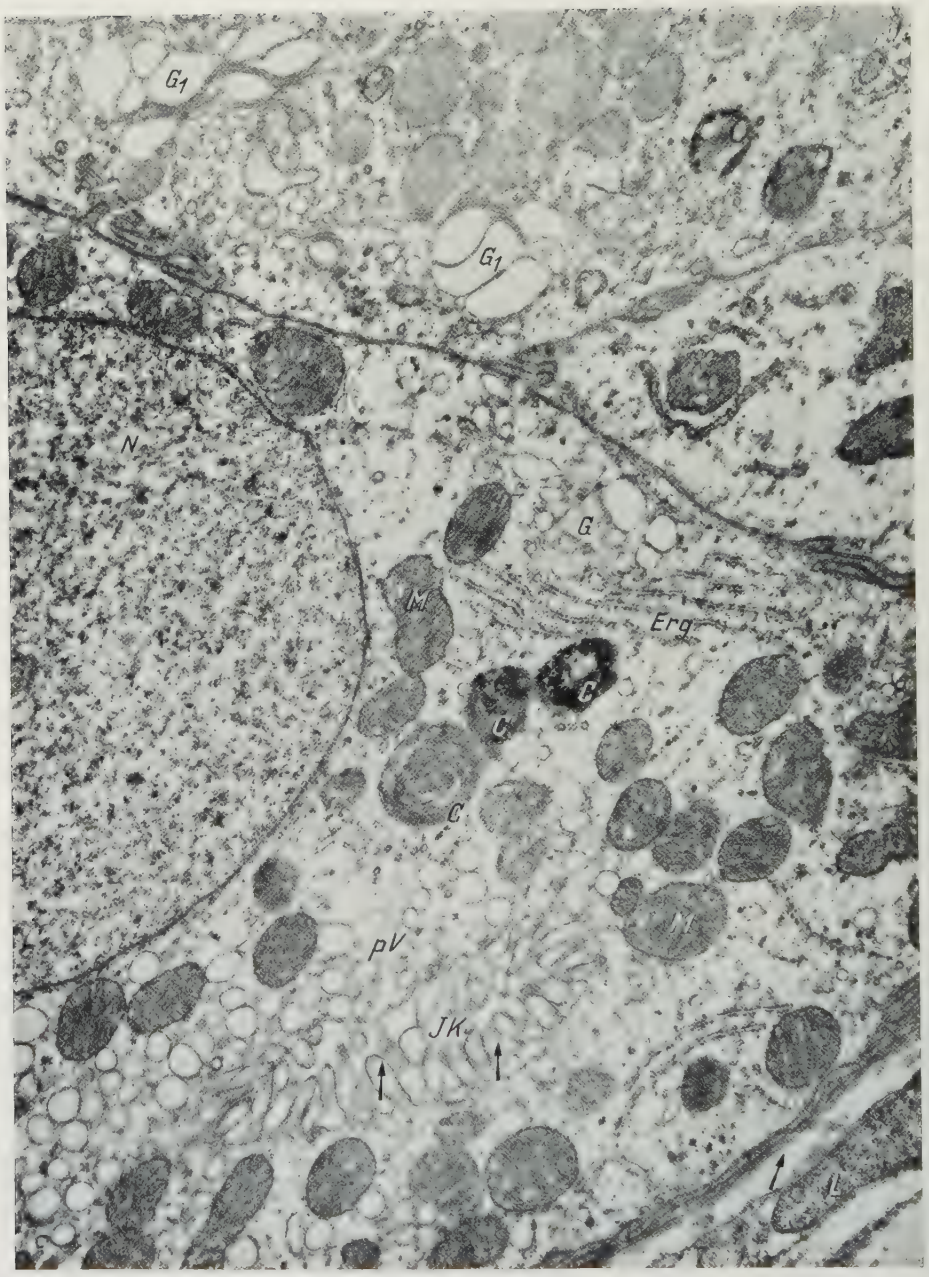

Abb. 3. Ausschnitt einer Belegzelle. *L* Lamina propria mit Basalmembran (↙). *N* Zellkern. *Erg* Lange regelmäßige Ergastoplasmalamellen. *M* Mitochondrien. *C* Lamelläre und granuläre Cytosomen. *JK* intrazelluläres Kanälchen mit plumpen Mikrovilli. Das Zentrum der Mikrovilli ist hell; unterhalb ihrer Grenzmembran befindet sich eine dichtere Rindenzone (↗). *pV* parakanalikuläre Vakuolen. *G* Golgi-Vakuolen. Am oberen Bildrand Teil einer Hauptzelle mit Golgi-Vakuolen (G_1). 19200:1

Körper, deren starke Osmiophilie zwar auf einen höheren Lipoidgehalt schließen läßt, deren Struktur jedoch im allgemeinen von der Struktur der üblichen Lipoid-

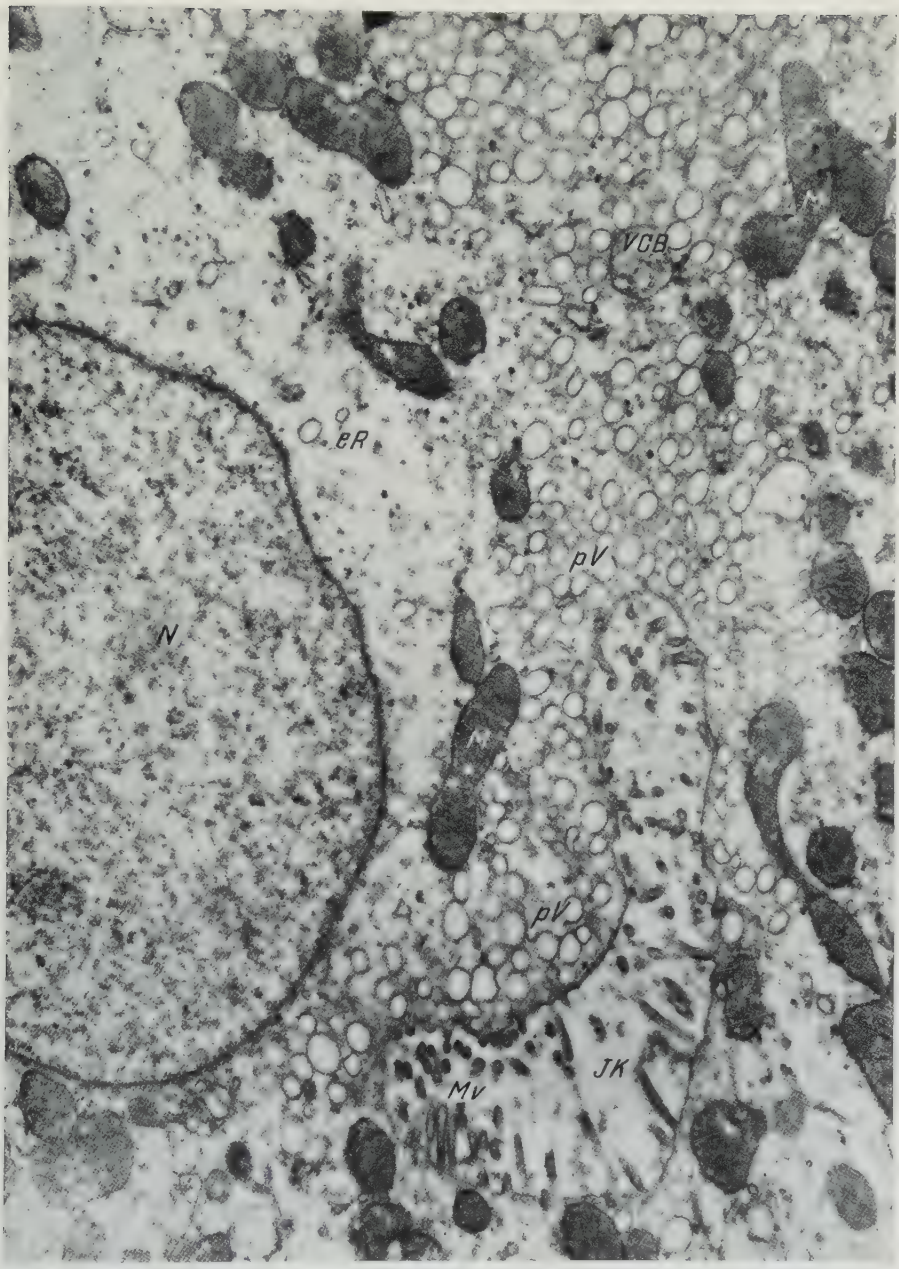

Abb. 4. *N* Zellkern. Anlagerung von RNS-Granula an die äußere Kernmembran. *eR* endoplasmatisches Reticulum. *pV* parakanalikuläres Vakuolensystem. *JK* intrazelluläres Kanälchen mit schlanken Mikrovilli (*Mv*). Im Cytoplasma z. T. lang ausgezogene und hantelförmige Mitochondrien (*M*). *VCB* „vacuole containing body". 18750:1

einschlüsse mancher Zellen abweicht (Abb. 2 und 6). Größe und Form der Körper variieren ein wenig. Meist sind sie gleichmäßig dicht und homogen. In wenigen Fällen erkennt man bei stärkerer Vergrößerung eine angedeutete feinstlamelläre,

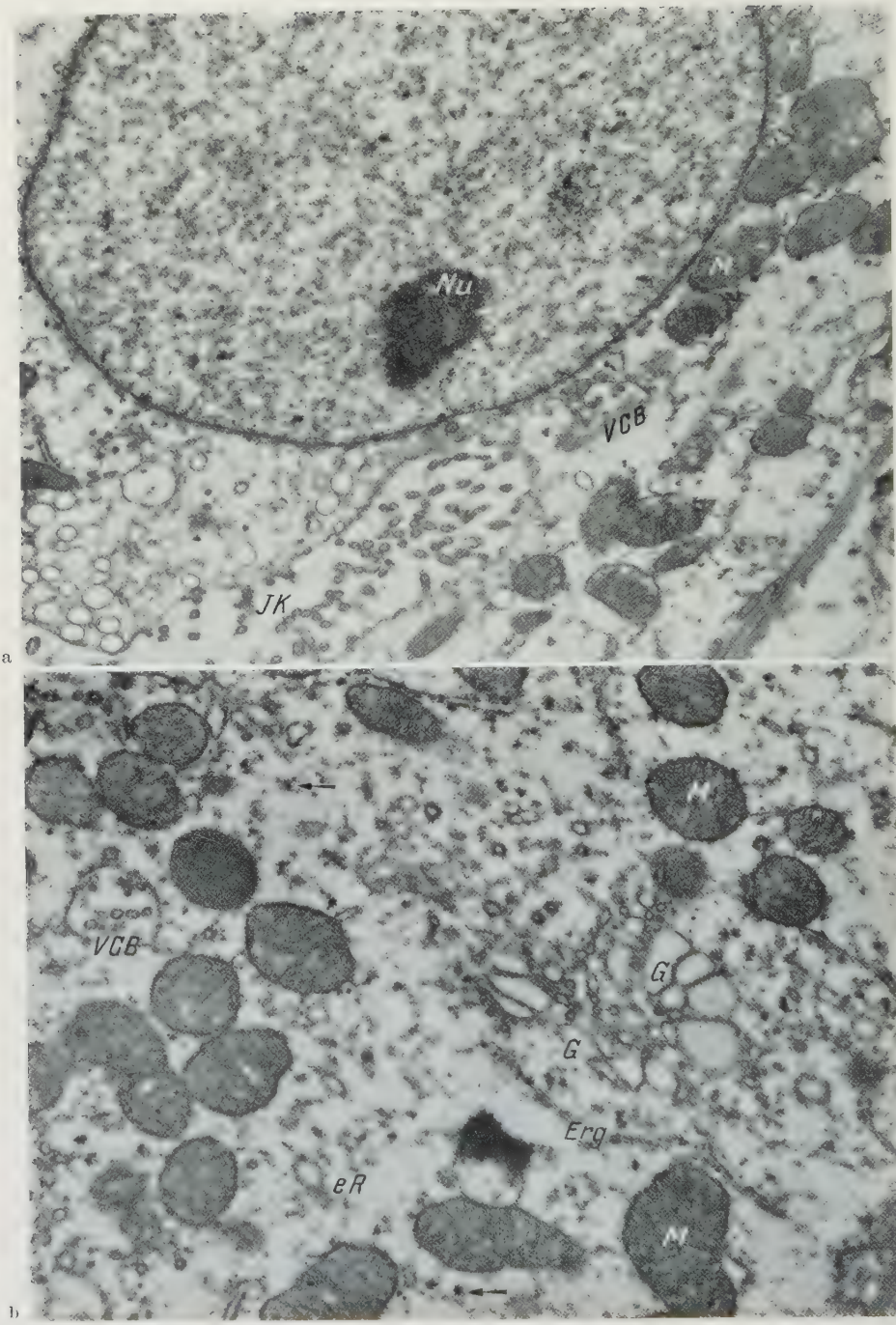

Abb. 5. a Belegzelle. Zellkern mit Nucleolus (*Nu*). An der äußeren Kernmembran stellenweise RNS-Granula. *JK* intrazelluläres Kanälchen, reicht bis dicht an den Zellkern und zeigt zahlreiche schlanke Mikrovilli. *M* dichte Mitochondrien. *VCB* „vacuole containing body". 14500:1
b Ausschnitt aus Belegzelle. *G* Golgi-Apparat. Dichte Mitochondrien (*M*). *eR* endoplasmatisches Reticulum. Palade-Granula (Pfeil). *VCB* „vacuole containing body". *Erg* Ergastoplasma. 24000:1

diagonal verlaufende Schichtung oder feinstgranuläre Strukturierung. Die lipoiden Einschlüsse sind rund, oval oder häufiger von einer eckigen, kristalloiden Figur (Abb. 6a und b). Sie liegen direkt im Cytoplasma oder innerhalb vakuolärer Cytoplasmaaufhellungen (Abb. 6a), die keinerlei oder höchst unscharfe Membranen aufweisen. Auffällig sind dabei die fast immer zu beobachtenden engen Beziehungen entweder zu Mitochondrien (Abb. 6b) oder zu dem Golgi-Apparat (Abb. 6a). Im letzteren Falle ist nicht mit Sicherheit zu sagen, ob die umgebende Vakuole einen Teil des Golgi-Komplexes darstellt oder nicht. In einigen Fällen gibt es offenbar morphologische Übergänge zu den erwähnten „morschen" Mitochondrien, deren Restkörper sich dann anscheinend verdichtet.

7. Das intra- und interzelluläre Kanälchensystem

Eine nur den Belegzellen eigentümliche morphologische Besonderheit ist das Kanälchensystem, das verschieden benannt worden ist (s. bei Plenk 1932). Entsprechend den früheren lichtmikroskopischen Beschreibungen lassen sich Belegzellen mit ein- und mehrfacher Anlage von Kanälchen beobachten. Die Kanälchen verlaufen gewunden und reichen vielfach von der Oberfläche bis unmittelbar an die Zellbasis (Abb. 2); infolge ihrer Windungen können sie in Ultradünnschnitten nicht immer in ihrer Gesamtheit gesehen werden. Es finden sich aber fast immer mehrere Tangential- und Querschnitte (Abb. 2) innerhalb einer Zelle, aus deren Lagerung und Form sich die Verlaufsrichtung des Kanälchens rekonstruieren läßt. Die Kanälchen selbst bestehen offenbar aus tiefen Einstülpungen der Zelloberfläche (Abb. 2 und 7a). Ihren Seitenwänden entspringen zahlreiche, meist plumpe Mikrovilli, die bei kollabierter Kanälchenwand miteinander verzahnt sein können (Abb. 1, 2 und 7a); bei erweiterten Kanälchen ragen sie zottenförmig in das Lumen (Abb. 1, 3, 4 und 5a). Das Zentrum der Mikrovilli ist hell; unterhalb der Oberflächenmembran zeigen sie wiederholt Verdichtungen unter Ausbildung einer Rindenzone (Abb. 1, 3 und 7a), die von Lawn (1960) bei der Ratte ebenfalls beobachtet wurde (Abb. 1, 3 und 7a). Sichere Doppelmembranen, die von Hally (1959) beschrieben werden, fanden wir nicht. Struktur- und anlagemäßig gleichen die „intrazellulären Kanälchen" der Belegzelle des Magens weitgehend den „Invaginationen" der Langhansschen Riesenzellen im tuberkulösen Granulationsgewebe (s. Gusek und Naumann 1959). Die Kanälchen enden bzw. beginnen auf unseren Bildern entweder an der freien Zelloberfläche (Abb. 7a) oder noch innerhalb des Interzellularraumes (Abb. 2). Es finden sich auch „interzelluläre Kanälchen" unter Umwandlung der seitlichen Zelloberflächen zu Mikrovilli (Abb. 2). Sehr oft verlaufen die „Sekretkapillaren" bis dicht an den Zellkern (Abb. 5a), ohne daß sich ein direkter Übergang in den „perinukleären Raum" (Watson 1955) zeigte.

D. Besprechung der Befunde

Die gesteigerte Aufmerksamkeit, die den Belegzellen bei morphologischen Untersuchungen gewidmet wurde, beruht auf der bereits von R. Heidenhain (1870) vertretenen Annahme, daß die Belegzelle des Magens nicht an der Produktion eines eiweißhaltigen Bestandteiles des Magensaftes teilhat, sondern Wasser, Wasserstoff- und Chlorionen sezerniert. Der Funktion der Belegzelle sind dementsprechend zahlreiche biochemische und morphologische Arbeiten

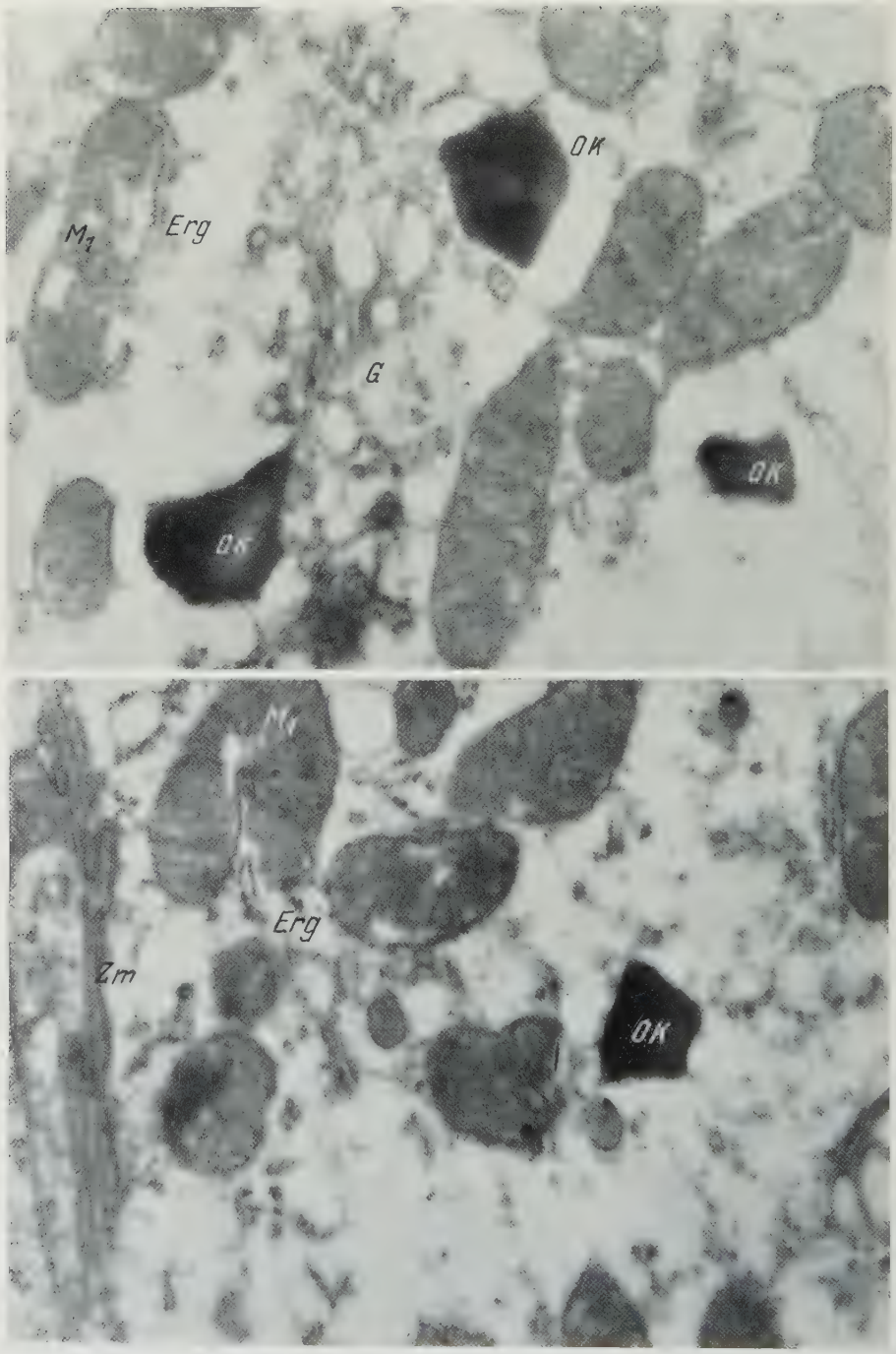

Abb. 6. a Ausschnitt einer Belegzelle. *G* Golgi-Apparat. An seinen beiden Polen kantige osmiophile Körper (*OK*). M_1 vakuolär aufgehelltes Mitochondrium mit stark aufgelockerter bis -gelöster Außenmembran und Kontakt mit Ergastoplasma (*Erg*). 38000:1. b Ausschnitt einer Belegzelle. *OK* osmiophiler Körper. Vakuoläre Aufhellung und scharfe Abknickung eines Mitochondrium (M_1). *Zm* gefaltete Zellmembran an der Zellbasis. *Erg* Ergastoplasma. 34500:1

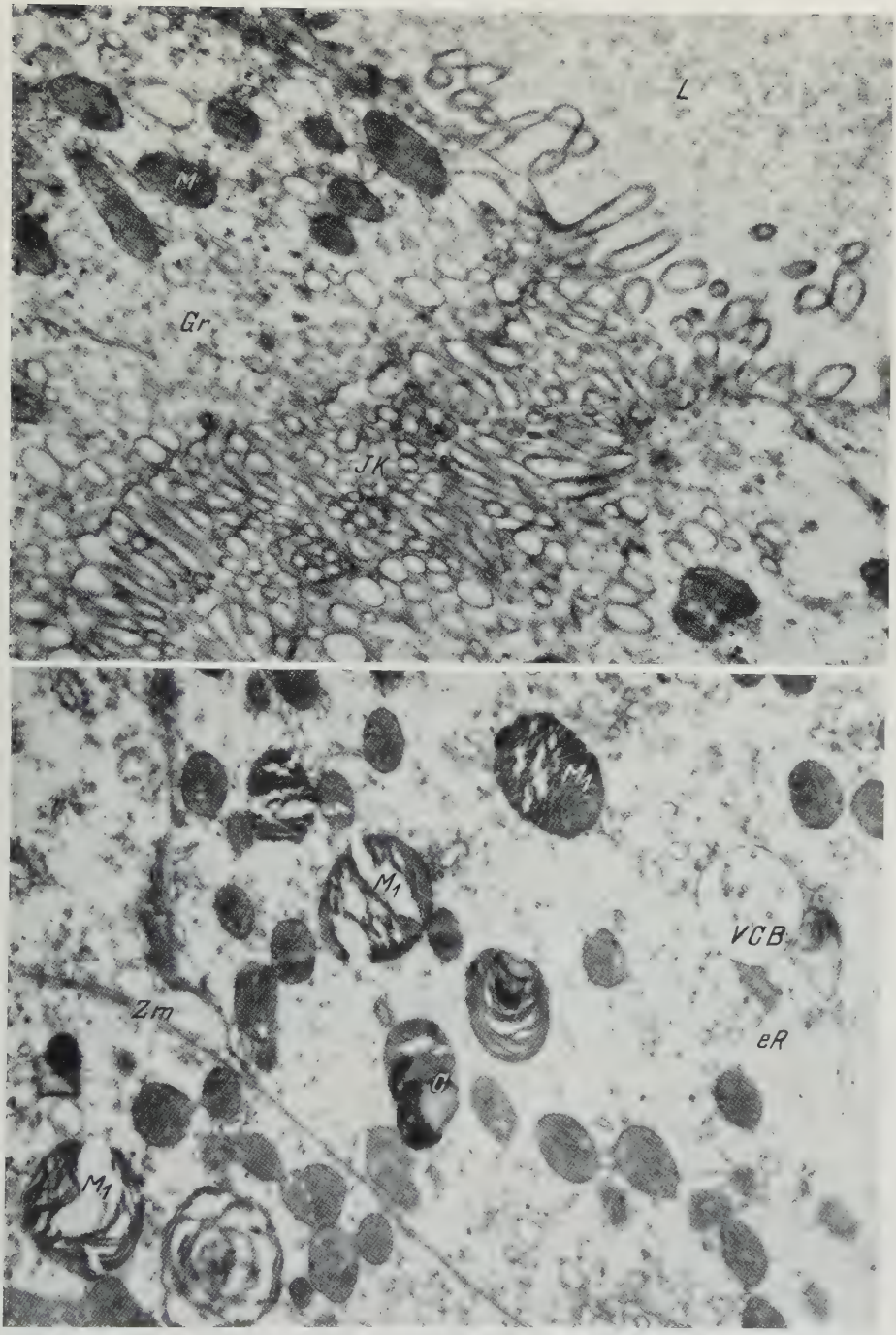

Abb. 7. a Freie Oberfläche einer Belegzelle. *L* Drüsenlumen. Kontinuierlicher Übergang der freien mit Mikrovilli besetzten Oberfläche in das intrazelluläre Kanälchen (*JK*). Die Mikrovilli zeigen eine Plasmamembran und eine schmale dichtere Rindenzone, das Zentrum ist hell. *Gr* Paladegranula. *M* dichte Mitochondrien. 29000:1. b Ausschnitte von drei Belegzellen. *Zm* Zellmembran. *C* Cytosom. *VCB* „vacuole containing body". M_1 lamellär transformierte Mitochondrien. *eR* endoplasmatisches Reticulum. 14500:1

gewidmet worden. In neuerer Zeit befaßte sich Vollrath (1959) in einer fermenthistochemischen Studie mit der „Entwicklung und Funktion der Belegzellen der Magendrüsen" verschiedener Species — auch des Menschen — unter Anwendung histochemischer Methoden zum Nachweis von Carboanhydrase und Bernsteinsäuredehydrogenase. Berichte über die elektronenmikroskopische Feinstruktur

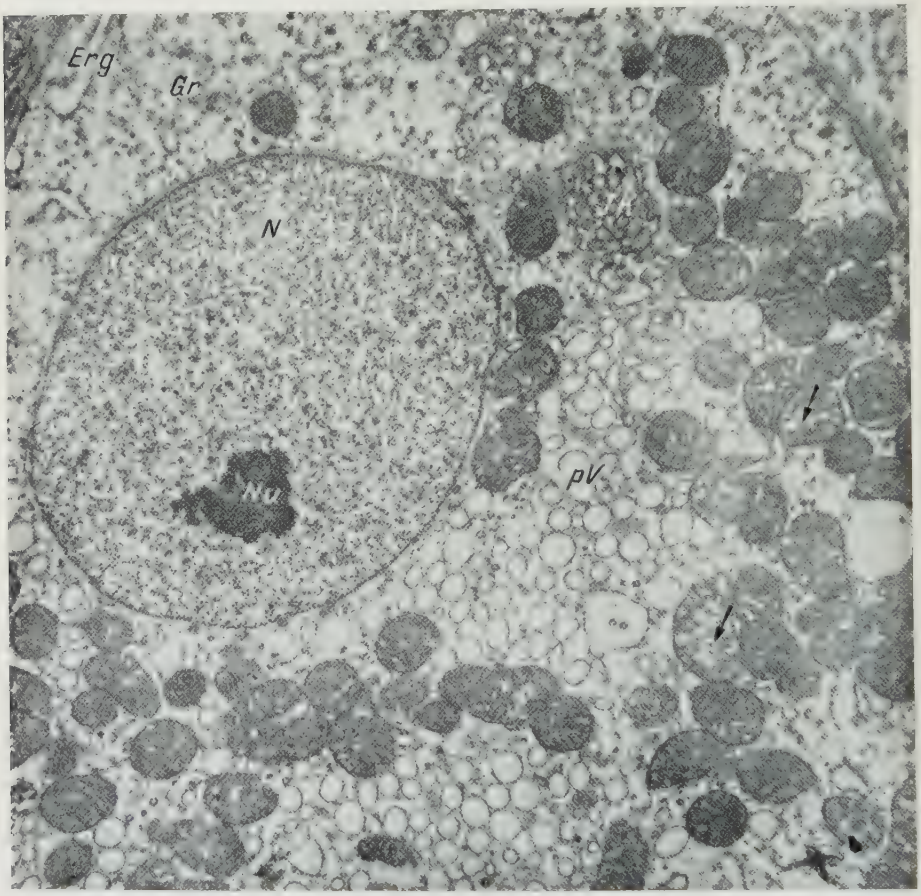

Abb. 8. Ausschnitt einer Belegzelle. Rund-ovaler Zellkern (*N*) mit glatt verlaufender doppelter Kernmembran. Granulärretikuläres Karyoplasma. Dunkler, angedeutet netziger Nucleolus (*Nu*). Dichte Mitochondrien mit zahlreichen Cristae. Granuläre Auflockerung von Mitochondrien (↙). Angeschnittenes intrazelluläres Kanälchen (*JK*). *Erg* Ergastoplasma. Parakanalikuläres Vakuolensystem (*pV*). *Gr* Palade-Granula. 16000:1

der Belegzellen von Hund, Katze, Ratte, Maus und Amphibien sind in den Arbeiten von Sedar (1955—1959), Challice, Bullivant und Scott (1957), Kurosomi u. a. (1958), Hally (1959), Helander und Ekholm (1959), Lawn (1960), Vial und Orrego (1960) enthalten.

Unsere eigenen Beobachtungen haben an der Magenschleimhaut des Menschen teils gleichartige, teils noch unbekannte Befunde ergeben. Zum anderen weicht die Feinstruktur der Belegzellen auffällig vom Aufbau der anderen Drüsen- und der Oberflächenzellen ab (vgl. Krauspe und Gusek 1961). Während nämlich

die Kerne aller übrigen Zellen hinsichtlich ihrer Dichte und äußeren Form inkonstant sind, ist für die Belegzelle der helle und stets glattwandige Nucleus charakteristisch (Abb. 2 und 3). Relativ oft enthält der Kern einen dichten Nucleolus (Abb. 5a und 8), der bisher für die elektronenmikroskopisch untersuchten tierischen Belegzellen unerwähnt bleibt. Auch enthält das Cytoplasma einiger Belegzellen lange gestapelte Ergastoplasmalamellen (Abb. 3); abgesehen von einem glatt- und rauhwandigen endoplasmatischen Reticulum (Palade 1955) und kurzen, mit RNS-Granula besetzten Doppelmembranen, die in jeder Belegzelle und in den anderen Drüsenepithelien zu finden sind. Da Nucleolen und Ergastoplasma als das morphologische Substrat der zellulären Proteinsynthese anzusehen sind, den Belegzellen jedoch keine eiweißsezernierende Funktion zugesprochen wird, ist anzunehmen, daß die Eiweißproduktion in den ausgereiften Belegzellen dem Eigenstoffwechsel dient.

Lawn (1960) beschreibt glatt- und rauhwandige Tubuli, welche er dem endoplasmatischen Reticulum zurechnet. Sie sollen die Cytoplasmavakuolen untereinander, mit der äußeren Kernmembran und den Mitochondrien verbinden. Wie Lawn beobachteten wir die engen topographischen Beziehungen der Mitochondrien zu dem Ergastoplasma (Abb. 6a und b), ohne indessen der Ansicht Lawns völlig beipflichten zu können, dem Ergastoplasma komme nur die Rolle eines „intervakuolären Leitungssystems" zu. Enge Kontakte von Mitochondrien mit dem endoplasmatischen Reticulum bzw. mit dem Ergastoplasma finden sich häufig in aktiven und regenerierenden Zellen. Im Hinblick auf die funktionellen Aufgaben der Cytoplasmaorganellen kann angenommen werden, daß an diesen Stellen ein Stoffaustausch stattfindet; wir haben die Deutungsmöglichkeiten solcher Befunde an anderer Stelle ausführlich diskutiert (Gusek 1960). Aneinanderlagerungen von Ergastoplasmalamellen und Mitochondrien sind ferner ein regelmäßiger Befund in den schleimbildenden Oberflächenzellen und sicherlich ebenfalls Ausdruck enger funktioneller Zusammenhänge. Dafür sprechen auch die gleichzeitigen vakuolären Aufhellungen vieler der betreffenden Mitochondrien mit Unschärfe oder partiellem Verlust der äußeren Membran (Abb. 6a), was auf Substanzausschleusungen schließen läßt. Derartige Bilder an Mitochondrien sind bereits von Wohlfarth-Bottermann (1957) und von Weissenfels (1957) in diesem Sinne gedeutet worden. Bernhard und Rouiller (1956) schlossen z. B. aus solchen Bildern bei ihren Untersuchungen an regenerierenden Leberzellen auf enge funktionelle Zusammenhänge bei der Regeneration des endoplasmatischen Reticulum.

In seiner zusammenfassenden Darstellung der mikroskopischen Anatomie des Magens schreibt Plenk (1932): „ein Binnenapparat in den gewöhnlichen Dimensionen scheint in den Belegzellen nicht vorhanden zu sein", da sein sicherer Nachweis zweifelhaft geblieben ist. Plenk erörtert deshalb mit einer Reihe anderer Autoren (Lit. bei Plenk 1932) die Möglichkeit, „daß das System der intracellulären Capillarkörbe hier den Binnenapparat repräsentiert". Auch in den vorliegenden elektronenmikroskopischen Studien wird bisher nur von Sedar (1955), Challice u. Mitarb. (1957) sowie von Lawn (1960) über das Vorkommen eines Golgi-Apparates berichtet; nach Hally (1960) fehlt er bei der Maus. Der Nachweis eines Golgi-Apparates in den Belegzellen des Menschen erscheint uns deshalb bemerkenswert. Auch Moussa und Khattab (1937) beschreiben einen

Golgi-Komplex. Er verfügt auf unseren Aufnahmen zwar über die klassischen Komponenten wie Vesikel, Doppelmembranen und Vakuolen (s. Abb. 5b und 6a; vgl. Dalton und Felix 1954, Sjöstrand und Hanzon 1954), häufiger ist er jedoch grobvakuolärer Art (Abb. 2 und 3; vgl. auch Challice u.a. 1957). Lawn (1960) zeigt dagegen einen Golgi-Komplex aus abgeflachten Vakuolen.

Da die Belegzellen nachweislich Salzsäure bilden, Salzsäureproduktion aber größere Energiemengen erforderlich macht, erklärt sich ihr großer Reichtum an Mitochondrien, in welchen die Atmungsfermente, die Fermente der oxydativen Phosphatsynthese und die Fermente des Zitronensäurezyklus lokalisiert sind. Übereinstimmend mit den Befunden der anderen Untersucher (Sedar, Challice u. a., Hally, Helander und Ekholm, Lawn) zeichnen sich auch beim Menschen die Mitochondrien durch eine sehr dichte Matrix und durch eine relativ große Anzahl von Cristae mitochondriales aus. Welche Bedeutung die kleinen dichten Partikel innerhalb der Matrix mitochondrialis haben, ist noch unbekannt (Abb. 1).

Die Partikel sind in vielen Zelltypen beobachtet worden. Nach Verabreichung von Salzlösungen sah Weiss (1955) deren Ansteigen in den Mitochondrien des Darmepithels. Er nahm darum an, daß sie für den Kationentransport verantwortlich sind. Es wäre deshalb möglich, die dichten Partikel in den Mitochondrien der Belegzellen mit der Salzsäurebildung in Zusammenhang zu bringen. Gleichzeitig muß man berücksichtigen, daß die Mitochondrien wiederum den größten Teil der sog. „oxyphilen Granula" der Lichtmikroskopie repräsentieren und sich in enger Beziehung zu dem Kanälchensystem oder dem „parakanalikulären Vakuolensystem" befinden (vgl. weiter unten!).

Die Natur dieser kleinen intramitochondrialen Granula ist völlig unklar. Sie können wahrscheinlich die verschiedensten Stoffe darstellen, nach Poche (1959) möglicherweise auch Vitamine, in Mastzellen vielleicht metachromatische mukopolysaccharide Substanzen (Gusek 1960). Die Partikelchen finden sich darüber hinaus ebenso zahlreich in den Mitochondrien der anderen Magenepithelien. Auch in den Mitochondrien beim Magen-Carcinom sind sie reichlich enthalten (s. Krauspe und Gusek 1961).

Nach Lindberg und Ernster (1954) bietet der lamelläre Feinbau der Mitochondrien Gelegenheit zu einer regelmäßigen Anordnung der in ihnen enthaltenen Multienzymsysteme. Mölbert u. a. (1960) haben in neuerer Zeit durch Ausarbeitung elektronenmikroskopisch-fermenthistochemischer Methoden bereits für eine Reihe von Enzymen die Lokalisationen an den Cristae bestätigen können (s. auch Barnett und Palade 1957). Seitdem Altmann (1894) die für die Belegzellen charakteristischen „oxyphilen Granula" und Mitochondrien als identische Gebilde betrachtete, hat sich die Mehrzahl der Untersucher in späterer Zeit seiner Meinung angeschlossen. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen am tierischen und unsere Befunde am menschlichen Magen haben für die intracytoplasmatischen Körperchen den für Mitochondrien typischen Aufbau ergeben, wenngleich hinsichtlich Dichte der Matrix und Zahl der Innenmembranen deutliche Abweichungen gegenüber den anderen Drüsenzellen bestehen.

Die Mitochondrien liegen z. T. regellos im Cytoplasma, sehr oft jedoch in enger Nachbarschaft mit den intrazellulären Kanälchen und den größeren endoplasmatischen Vakuolen (Abb. 1, 2 und 8). Nach Hally (1959) haben diese größeren durchweg glattwandigen Vakuolen keine Beziehungen zu dem endoplasmatischen Retikulum. Da sie einzeln jedoch auch im zentraleren Cytoplasma in dieser Größe anzutreffen sind (z. B. Abb. 4), möchten wir sie mit Sedar (1955) und Lawn (1960) als eine besondere Funktionsform des allgemeinen endoplasmatischen

Hohlraumsystems betrachten und bis zur Klärung noch offener Fragen als „*parakanalikuläres Vakuolensystem*" bezeichnen. Daß dieses Vakuolensystem bei experimenteller Stimulierung der Magensaftsekretion entweder mit Verschwinden oder Konzentration reagiert, konnte SEDAR (1959) nach Pilokarpin- und Histamininjektion beobachten. Wir selbst sahen bei intensiver parakanalikulärer Konzentration von Vakuolen und Mitochondrien vielfach an den Mitochondrien die schon erwähnte „Auflockerung" ihrer Membransysteme (s. Abb. 8). Mitochondrien, intrazelluläre Kanälchen und parakanalikuläre Vakuolen verleiten deshalb und auf Grund ihrer engen örtlichen Beziehungen zu der Annahme, daß sie gemeinsam als eine zellphysiologisch wichtige Funktionseinheit zu betrachten sind. So konnten auch SCHIEBLER und VOLLRATH (1959) z. B. fermenthistochemisch zeigen, daß das Reaktionsprodukt für die in den Belegzellen reichlich vorkommende und für die Salzsäureproduktion wichtige Carboanhydrase vornehmlich innerhalb dieses den intrazellulären Kanälchen anliegenden Cytoplasmas lokalisiert ist. NACHLAS u. a. (1957) berichten für Bernsteinsäuredehydrogenase gleichfalls über eine parakanalikuläre Anreicherung. Daß die Aktivität der Dehydrogenase-Systeme andererseits an die Membranen der Mitochondrien selbst gebunden ist, ergaben z. B. die elektronenmikroskopisch-fermenthistochemischen Untersuchungen von BARNETT und PALADE (1957). Die intrazellulären Kanälchen vergrößern in Verbindung mit ihren Mikrovilli gleichzeitig die Oberfläche der Belegzelle um ein Vielfaches und erlauben einen schnelleren Stoffaustausch. Hier werden weitere und nach Möglichkeit kombinierte elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen anzusetzen haben.

Lamelläre Transformation (Abb. 7 b) und osmiophile Verdichtungen von Mitochondrien (Lit.-Übersicht bei SCHULZ 1958) sind vorwiegend aus Untersuchungen am Alveolarepithel der Lunge bekannt und nur in Einzelfällen für Krebszellen erwähnt worden (SCHULZ 1958, GUSEK 1959). In Magendrüsen wurden sie bisher noch nicht beschrieben. Bemerkenswerterweise konnten wir diese Befunde ausschließlich nur in Belegzellen erheben.

Nach den Untersuchungen von SCHULZ (1958) am Alveolarepithel handelt es sich bei der lamellären Transformation und osmiophilen Verdichtung der Mitochondrien um einen Effekt durch Kohlensäureanreicherung; nach Hemmung der Carboanhydrase mit Hilfe von Diamox konnte er unterbunden werden. Nachdem SCHIEBLER und VOLLRATH (1959) sowie VOLLRATH (1959) den Reichtum der Belegzellen an Carboanhydrase demonstrierten, sehen wir hierin die Ursache für das selektive Vorliegen lamellär transformierter Mitochondrien in den salzsäureproduzierenden Zellen. In den Oberflächenepithelien, die nach VOLLRATH (1959) ebenfalls, aber weniger intensiv Carboanhydrase enthalten sollen, konnten wir diese Befunde bis jetzt nicht erheben.

Ein weiterer, nur an den Belegzellen zu erhebender Befund betrifft die lamellären und granulären „Cytosomen" (Abb. 3 und 7 b) und die dichten osmiophilen Körper (Abb. 2, 6 a und b). In den wenigsten Fällen gleichen letztere einfachen bizarren Lipoideinschlüssen, wie sie aus anderen Zellen bekannt sind. Durch ihr mitunter kantiges Aussehen gewinnen sie gelegentlich ein kristalloides Aussehen und gleichen dann in selteneren Fällen den von PETZOLD (1959) für *Lumbricus terrestris* L. beschriebenen „Bakteroiden". Wie letztere und die Interna der von BARGMANN und KNOOP (1956—1958) untersuchten Granula der

eosinophilen Granulocyten lassen sie manchmal eine allerdings nur angedeutete diagonal verlaufende feinstlamelläre Schichtung erkennen, sind aber insgesamt und osmiophiler. Kreuzgitterstruktur, die Petzold auf einen Beugungseffekt an einem Proteinkristall schließen ließen, haben wir niemals finden können. Ebensowenig gibt es Anhaltspunkte dafür, daß es sich um quergeschnittene Spirillen (s. bei Plenk 1932) handeln könnte, welche in den Kanälchen vorkommen können und von Vial und Orrego (1960) bei der Katze elektronenmikroskopisch gefunden wurden. Die osmiophilen Körper lagen in unseren Fällen stets intracytoplasmatisch. Wir haben einige Anhaltspunkte dafür, daß sie aus Mitochondrien entstehen könnten; auch bei anderen Untersuchungen wurden intracytoplasmatische Fetttropfen mehrfach von fettig degenerierten Mitochondrien abgeleitet (Lit. bei Miller 1958, S. 315). Die vorherrschende kantige Figur der Körper macht es aber schwierig, sie als einfache Fettkörper zu betrachten. Vielmehr darf mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß sie besondere Stoffwechselprodukte der Belegzellen darstellen. Andere Magenepithelien enthalten die osmiophilen Körper nicht. Die Frage nach ihrer genaueren Natur und Bedeutung muß zunächst noch offenbleiben. Wie ihre mitunter enge örtliche Beziehung zu Golgi-Strukturen zu verstehen ist, bleibt ebenfalls noch unklar. Jedenfalls kann auf Grund ihrer ausgeprägten Osmiophilie auf einen höheren Gehalt an Lipoiden geschlossen werden. Dieser Hinweis erscheint wichtig; denn auch die Cytosomen sind osmiophil, und ebenso enthalten die lamellär transformierten Mitochondrien offenbar vermehrt demaskierte Lipoide. Dadurch könnte die Tatsache eine Erklärung finden, daß Lim und Ma (1926) die Färbbarkeit oxyphiler Granula mit Sudanschwarz feststellen konnten, während Menzies (1949) in den Belegzellgranula Phospholipide und Eiweiße nachwies.

Zusammenfassend kann nach unseren Beobachtungen an den Fundusdrüsen des menschlichen Magens also gesagt werden, daß die Ultrastruktur der Belegzellen des Menschen und der niederen Säugetiere im wesentlichen übereinstimmen und daß den Belegzellgranula offenbar differenter geformte elektronenmikroskopische Strukturen zugrunde liegen, als bisher angenommen wurde.

Zusammenfassung

1. Es wurden elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Magenschleimhaut des *Menschen* durchgeführt und die Ultrastruktur der Belegzellen in den Fundusdrüsen beschrieben. Die bisherigen elektronenmikroskopischen Befunde am tierischen Untersuchungsgut wurden im allgemeinen bestätigt oder ergänzt. Darüber hinaus ergaben sich eine Anzahl noch unbekannter Befunde, die diskutiert werden.

2. Die Belegzellen enthalten im Gegensatz zu allen anderen Drüsenzellen stets einen glattwandigen Zellkern, der ein lockergranuläres Karyoplasma aufweist. Es findet sich auch ein dichter Nucleolus.

3. Die Belegzellen werden von einem gewunden verlaufenden intrazellulären Kanälchensystem durchzogen, das bis dicht an die Zellbasis reichen kann und oft in unmittelbare Nähe des Zellkernes führt. Die Seitenwände der Kanälchen werden durch Mikrovilli besetzt. Im Bereich der Kanälchen-Mikrovilli befindet sich unterhalb der Plasmamembran eine dichtere Rindenzone. Das Zentrum

der Mikrovilli ist hell. Die intrazellulären Kanälchen enden an der freien Zelloberfläche, welche mehrere Mikrovilli aufweist, oder sie münden in *inter*zelluläre Kanälchen gleichen Feinbaues.

4. Das Cytoplasma enthält besonders in Nähe oder in unmittelbarer Nachbarschaft der Kanälchen bis zu 250 mμ große glattwandige Vakuolen, die als „parakanalikuläres Vakuolensystem" bezeichnet und als eine besondere Funktionsform des endoplasmatischen Reticulums gedeutet werden. Die Vakuolen scheinen zusammen mit den Kanälchen und den eng anliegenden Mitochondrien eine Funktionseinheit bei der Salzsäureproduktion zu bilden; histochemische Ergebnisse anderer Untersucher ergaben an diesen Orten eine Anreicherung von Carboanhydrase, die für die Salzsäureproduktion wichtig ist.

5. Die Mitochondrien der Belegzellen sind auch beim Menschen sehr elektronendicht, liegen bevorzugt den intrazellulären Kanälchen an und enthalten zahlreiche Cristae sowie kleine elektronendichte Partikel, deren mögliche Bedeutung in diesem Zusammenhang diskutiert wird. Die äußere Form der Mitochondrien kann variieren. Es finden sich auch vakuoläre Aufhellungen, z. T. bei gleichzeitigem Schwund der Außenmembran oder Anlagerungen der Mitochondrien an ergastoplasmatische Strukturen. Es zeigen sich mehrfach sehr locker erscheinende Mitochondrien.

6. Das Cytoplasma enthält weiterhin ein sehr feinvesikuläres glatt- und rauhwandiges endoplasmatisches Reticulum und Golgi-Strukturen meist vakuolären Aufbaues. Lange Ergastoplasmalamellen werden zusammen mit den beobachteten Nucleolen als Substrat der Proteinsynthese für den Eigenstoffwechsel der Belegzellen gedeutet.

7. Im Cytoplasma der Belegzellen finden sich ferner granuläre und lamelläre Cytosomen und nur in den Belegzellen lamellär transformierte und osmiophil verdichtete Mitochondrien sowie meistens eigenartige kantige osmiophile Körper. Letztere werden für Lipoid-Eiweiß-Komplexe gehalten; ihre Natur und Bedeutung bleibt offen. — Die Entstehung der lamellären Transformation von Mitochondrien soll nach bisher bekannten Daten auf Kohlensäureanreicherung beruhen; in den Belegzellen könnte sie durch deren Reichtum an Carboanhydrase erklärt werden.

Die verschiedenen, mehr oder weniger osmiophilen und demzufolge lipoidhaltigen Cytoplasmaeinschlüsse scheinen Erklärungsmöglichkeiten für einige histochemische Ergebnisse abgeben zu können, die an den „oxyphilen Granula" der Lichtmikroskopie erhoben wurden.

Insgesamt ergibt sich nach unseren vorliegenden Befunden, daß den für Belegzellen charakteristischen Granula elektronenmikroskopisch keine absolut einheitlichen Strukturen zugrunde zu liegen scheinen, wie nach bisherigen elektronenoptischen Untersuchungen anzunehmen war.

Aus den Befunden ergeben sich erneute Fragen, u. a. nach der Ultrastruktur der Beleg- und anderer Drüsenzellen in der entzündeten Schleimhaut.

Literatur

Bargmann, W., u. A. Knoop: Über das elektronenmikroskopische Bild des eosinophilen Granulocyten. Z. Zellforsch. **44**, 282—291, 692—696 (1956).
— — Über das Granulum des Eosinophilen. Z. Zellforsch. **48**, 130—136 (1958).

Barnett, R. I., and G. E. Palade: Histochemical demonstration of the sites of activity of dehydrogenase systems with the electron microscope. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 577—588 (1957).

Bernhard, W., and C. Rouiller: Close topographical relationship between Mitochondria and Ergastoplasm of liver cells in a definite phase of cellular activity. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 73—78 (1956).

Challice, E. C., S. Bullivant and D. B. Scott: The fine structure of some cytoplasmic inclusions of oxyntic cells. Exp. Cell Res. **13**, 488—492 (1957).

Dalton, A. J.: Electron micrography of epithelial cells of the gastro-intestinal tract and pancreas. Amer. J. Anat. **89**, 109—119 (1951).

—, and M. D. Felix: Cytologic and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis. Amer. J. Anat. **94**, 171—208 (1954).

Gusek, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen an einem polymorphzelligen Knochensarkom des Menschen. Beitr. path. Anat. **120**, 302—318 (1959).

— Submikroskopische Untersuchungen zur Ultrastruktur aktiver Bindegewebszellen. Habil.-Schr. Hamburg 1960. Stuttgart: Gustav Fischer (im Druck).

— Zur Ultrastruktur und Genese von Mastzellen und Mastzellengranula. Proc. Europ. Reg. Conference Electron Microscopy, Bd. II, Delft 1960, S. 912 –916. Trio, The Hague. N. V. Drukkerij.

—, u. P. Naumann: Elektronenoptische Untersuchungen am tuberkulösen Granulationsgewebe. Verh. dtsch. Ges. Path. **43**, 254—257 (1959).

Hally, A. D.: Functional changes in the vacuole-containing bodies of the gastric parietal cell. Nature (Lond.) **183**, 408 (1959).

— The fine structure of the gastric parietal cell in the mouse. J. Anat. (Lond.) **93**, 217—225 (1959).

Helander, H., and R. Ekholm: Ultrastructure of epithelial cells in the fundus glands of the mouse gastric mucosa. J. ultrastruct. Res. **3**, 74—83 (1959).

Krauspe, C., u. W. Gusek: Über Frühstadien des Magencarcinoms. Verh. dtsch. Ges. Path. **45** (1961).

Kurosumi, K., S. Shibasaki, G. Uchida and Y. Tanaka: Electron microscope studies on the gastric mucosa of normal rats. Arch. histol. jap. **15**, 587—624 (1958).

Lawn, A. M.: Observations on the fine structure of the gastric parietal cell of the rat. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 161—166 (1960).

Lim, R. K. S., and W. C. Ma: Mitochondrial changes in the cells of the gastric glands in relation to acitivity. Quart. J. exp. Physiol. **16**, 87—110 (1926).

Lindberg, O., and L. Ernster: Chemistry and physiology of Mitochondria microsomes. In: Protoplasmalogica, Handbuch der Protoplasmaforschung, Bd. 3/A 4. Wien: Springer 1954.

Menzies, G.: New observations on the granules in oxyntic cells. J. Anat. (Lond.) **83**, 25—29 (1949).

Miller, F.: Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenoptischen Bild. Verh. dtsch. Ges. Path. **42**, 261—332 (1958).

Mölbert, E., O. v. Deimling u. F. Duspiva: Enzymnachweis an Parenchymzellen im elektronenmikroskopischen Bild. Proc. Europ. Reg. Conf. Electron Micr., S. 635—640. Delft 1960.

Moussa, T. A., and F. J. Khattab: An experimental study of the Golgi-Apparatus, Mitochondria and sudanophil granules in oxyntic cells. Cellule **58**, 137—149 (1957).

Nachlas, M. M., K. C. Tsou, E. Souza, C. S. Cheng and A. M. Seligman: Cytochemical demonstration of succini dehydrogenase by the use of a new p-nitrophenyl substituted ditetrazole. J. Histochem. Cytochem. **5**, 420—436 (1957).

Palade, G. E.: A small particulate component of the cytoplasm. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 59—68 (1955).

— Studies on the endoplasmatic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 567—582 (1955).

— The endoplasmatic reticulum. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl. 85—97 (1956).

Petzold, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der „Bakteroiden" des Regenwurms Lumbricus terrestris L. Z. Zellforsch. **49**, 631—637 (1959).

Plenk, H.: Der Magen. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, herausgeg. von W. v. Möllendorff, Bd. V/2. Berlin: Springer 1932.
Poche, R.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Morphologie des Herzmuskels vom Siebenschläfer während des aktiven und des lethargischen Zustandes. Z. Zellforsch. **50**, 332—360 (1959).
Porter, K. R.: Electron microscopy of basophilic components of cytoplasm. J. Histochem. Cytochem. **2**, 346—374 (1954).
—, and G. E. Palade: Studies on the endoplasmic reticulum III. Its form and distribution in striated muscle cells. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 269—300 (1957).
Rhodin, J.: Correlation of ultrastructural organisation and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. An electron microscopic study including an experimental analysis of the conditions for fixation of the renal tissue for high resolution electron microscopy. Stockholm 1954.
—, and T. Dalhamn: Electron microscopy of the tracheal ciliated mucosa in rat. Z. Zellforsch. **44**, 345—412 (1956).
Schiebler, Th., u. L. Vollrath: Über die intrazelluläre Verteilung der Carboanhydrase in den Belegzellen menschlicher und tierischer Mägen. Naturwissenschaften **7**, 232 (1959).
Schulz, H.: Die Pathologie der Mitochondrien im Alveolarepithel der Lunge. Beitr. path. Anat. **119**, 45—70 (1958).
— Die submikroskopische Pathologie der Cytosomen in den Alveolarmakrophagen der Lunge. Beitr. path. Anat. **119**, 71—91 (1958).
Sedar, A. W.: The fine structure of parietal cells. (Abstr.) Anat. Rec. **121**, 365 (1955).
— Further studies on the fine structure of parietal cells. (Abstr.) Anat. Rec. **127**, 482—483 (1957).
— An attempt to correlate the fine structure of the parietal cell with functional state of the gastric mucosa. Anat. Rec. **133**, 337 (1959).
— Electron microscopy of the parietal cell in the dog gastric glands proper secreting in response to histamine or vagus stimulation. Fed. Proc. **18**, 141 (1959).
Sjöstrand, F. S., and V. Hanzon: Ultrastructure of Golgi-Apparatus of exocrine cells of mouse pancreas. Exp. Cell. Res. **7**, 415—429 (1954).
Vial, J. D., and H. Orrego: Electron microscope observations on the fine structure of parietal cells. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 367—372 (1960).
Vollrath, L.: Über Entwicklung und Funktion der Belegzellen der Magendrüsen. Z. Zellforsch. **50**, 36—60 (1959).
Watson, M. L.: The nuclear envelope. Its structure and relation to cytoplasmic membranes. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 257—270 (1955).
Weiss, J. M.: Mitochondrial changes induced by potassium and sodium in the duodenal absorptive cell as studied with the electron microscope. J. exp. Med. **102**, 783—787 (1955).
Weissenfels, N.: Über die funktionelle Entleerung, den Feinbau und die Entwicklung von Tumor-Mitochondrien. Z. Naturforsch. **12**b, 168—171 (1957).
— Über die Entleerung und Entwicklung der Mitochondrien und den Feinbau des Cytoplasmas von embryonalen Zellen. Z. Naturforsch. **13**b, 182—186 (1958).
— Über die Entstehung der Promitochondrien und ihre Entwicklung zu funktionstüchtigen Mitochondrien in den Zellen von Embryonal- und Tumorgewebe. Z. Naturforsch. **13**b, 203—205 (1958).
Wohlfahrt-Bottermann, K. E.: Cytologische Studien IV. Die Entstehung, Vermehrung und Sekretabgabe der Mitochondrien von Paramecium. Z. Naturforsch. **12**b, 164—167 (1957).

Privatdozent Dr. med. W. Gusek,
Pathologisches Institut der Universität, Hamburg 20, Martinistraße 52

Zeitschrift für Zellforschung 55, 810—817 (1961)

Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie der Medizinischen Akademie Düsseldorf (Directeur: Prof. Dr. med. H. Ruska) et Laboratoire de Zoophysiologie de l'Université de Caen (Directeur: Dr. B. Rybak)

SÉCRÉTIONS GRANULAIRES DANS LE COEUR BRANCHIAL DE *MYXINE GLUTINOSA* L.

Par

Heinz Hoffmeister, Karl Lickfeld, Helmut Ruska et Boris Rybak*

Avec 4 Figures dans le Texte

(Manuscrit reçu le 15 Août 1961)

Depuis les recherches de Johannes Müller sur les Cyclostomes, l'attention s'est portée sur les caractères morphologiques et physiologiques très particuliers de ces Vertébrés primitifs et principalement sur le coeur des Myxinoïdes qui a ainsi été l'objet de plusieurs travaux, ceux de C. W. Greene (1902), de A. J. Carlson (1904) et plus récemment de E. Östlund (1954), R. Fänge et E. Östlund (1954), K. B. Augustinson, R. Fänge, A. Johnels et E. Östlund (1955), D. Jensen (1957, 1961), B. Rybak (1959, 1960) et B. Rybak et P. Boivinet (1959); les propriétés anatomiques, physiologiques et biochimiques des coeurs d'*Eptatretus stoutii* et de *Myxine glutinosa* ont été examinées. Toutes les observations faites jusqu'à présent ont montré que le coeur des Myxinoïdes est aneural. Toutefois E. Östlund et ses collaborateurs (1960) et D. Jensen (1961) ont décrit des gouttelettes chromaffines dans des cellules sécrétoires spécifiques du ventricule de *Myxine glutinosa* et d'*Eptatretus stoutii*.

Matériel et techniques

Des ventricules et des oreillettes de neuf spécimens du Myxinoïde européen *Myxine glutinosa* provenant de trois envois successifs de Suède ont été excisés et immédiatement fixés pendant une heure dans une solution tamponnée renfermant 1% d'acide osmique. Les préparations ainsi fixées ont été ensuite lavées dans la solution tampon, déshydratées dans de l'acétone, enrobées dans du « Vestopal W » qui a été polymérisé à 60° C pendant 24 heures.

Résultats

Comme chez les Homéothermes le coeur, chez la Myxine, est recouvert par un péricarde et par une couche très fine de cellules épicardiques, mais les cellules musculaires de l'oreillette et du ventricule sont pauvres en fibrilles (Fig. 1 et 2). Dans les sections longitudinales de sarcomères des bandes Z étroites et M sont bien visibles. Dans la zone Z on décèle un reticulum endoplasmique dont les vacuoles sont en partie hypertrophiées. Les noyaux montrent une structure granulée régulière avec des nucléoles plus sombres généralement bien contrastés. L'ectoplasme présente de nombreuses mitochondries situées entre les fibrilles, certaines étant isolées, d'autres groupées. Plusieurs mitochondries montrent un

* Ce travail a été décidé après un échange de vues public entre B. Rybak et H. Ruska pendant le Troisième Congrès européen de Cardiologie à Rome (1960). — Nous exprimons nos vifs remerciements au Dr. B. Swedmark, Directeur de la Station zoologique de Kristineberg (Suède) pour l'envoi des animaux qui ont fait l'objet de ces recherches. La collaboration technique de Mlle B. Schmidt a été très appréciée.

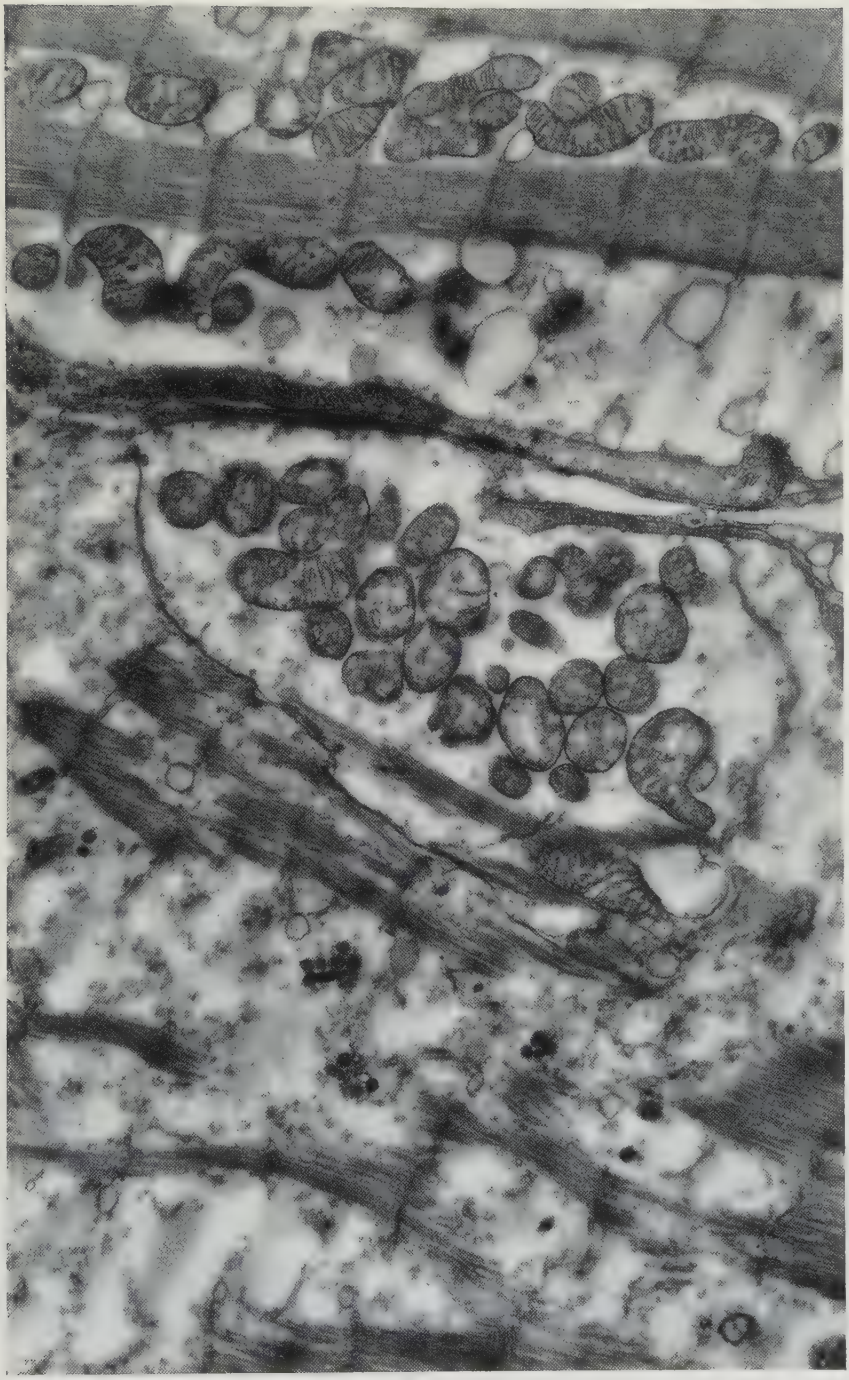

Fig. 1. Partie d'une section longitudinale du ventricule de *Myxine glutinosa*. Nombreuses mitochondries entre les fibrilles. Dans le tiers supérieur de la figure, granules sécrétoires avec membranes partiellement visibles (forme de stockage). Grossissement 15000:1

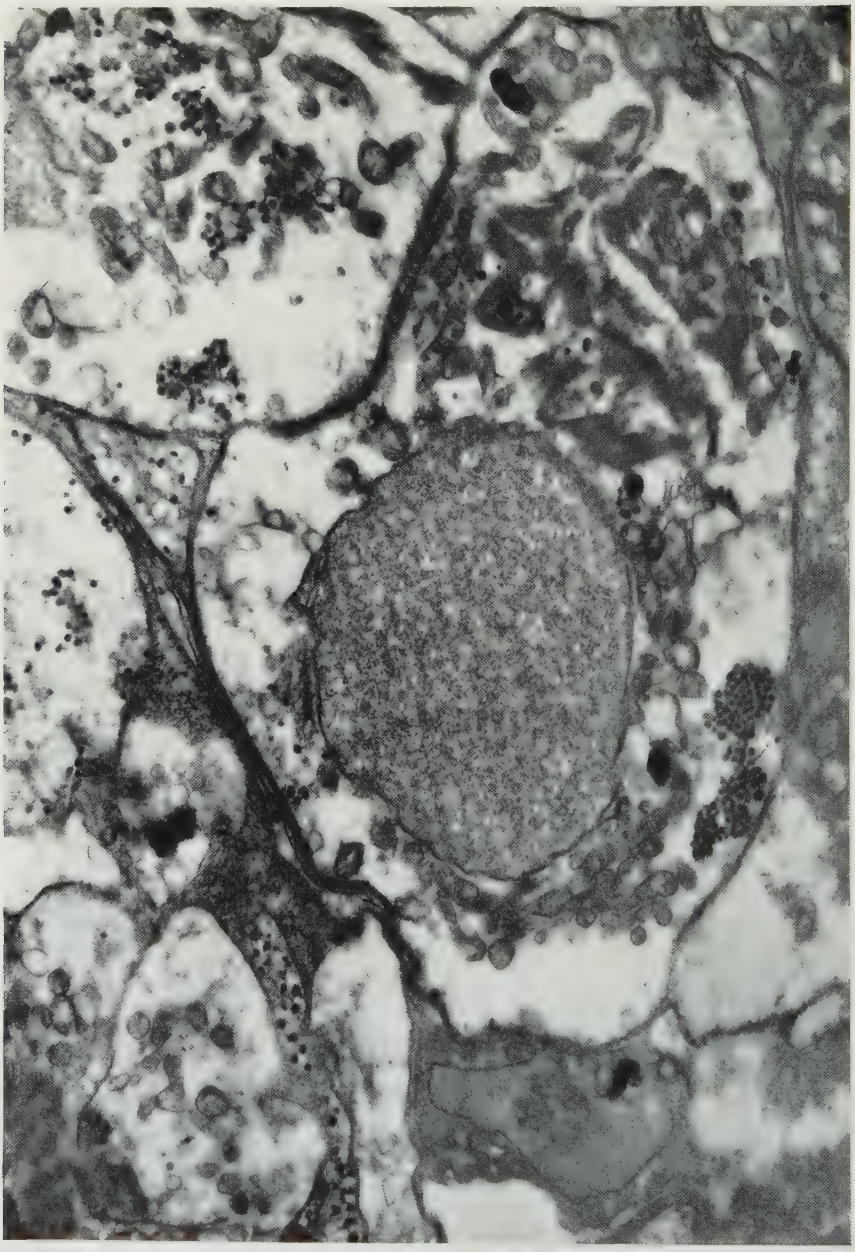

Fig. 2. Partie d'une cellule musculaire de l'oreillette de *Myxine glutinosa*. Dans le milieu du cliché, un noyau avec son caryoplasme finement granuleux. Grand nombre de mitochondries près du noyau. Nombreux granules sécrétoires au niveau de la membrane cellulaire (forme de stockage). Grossissement 7500:1

large espace entre les membranes externe et interne. Quelquefois on décèle, en contact intime avec les mitochondries et près du reticulum endoplasmique, des gouttelettes lipidiques à surface irrégulière.

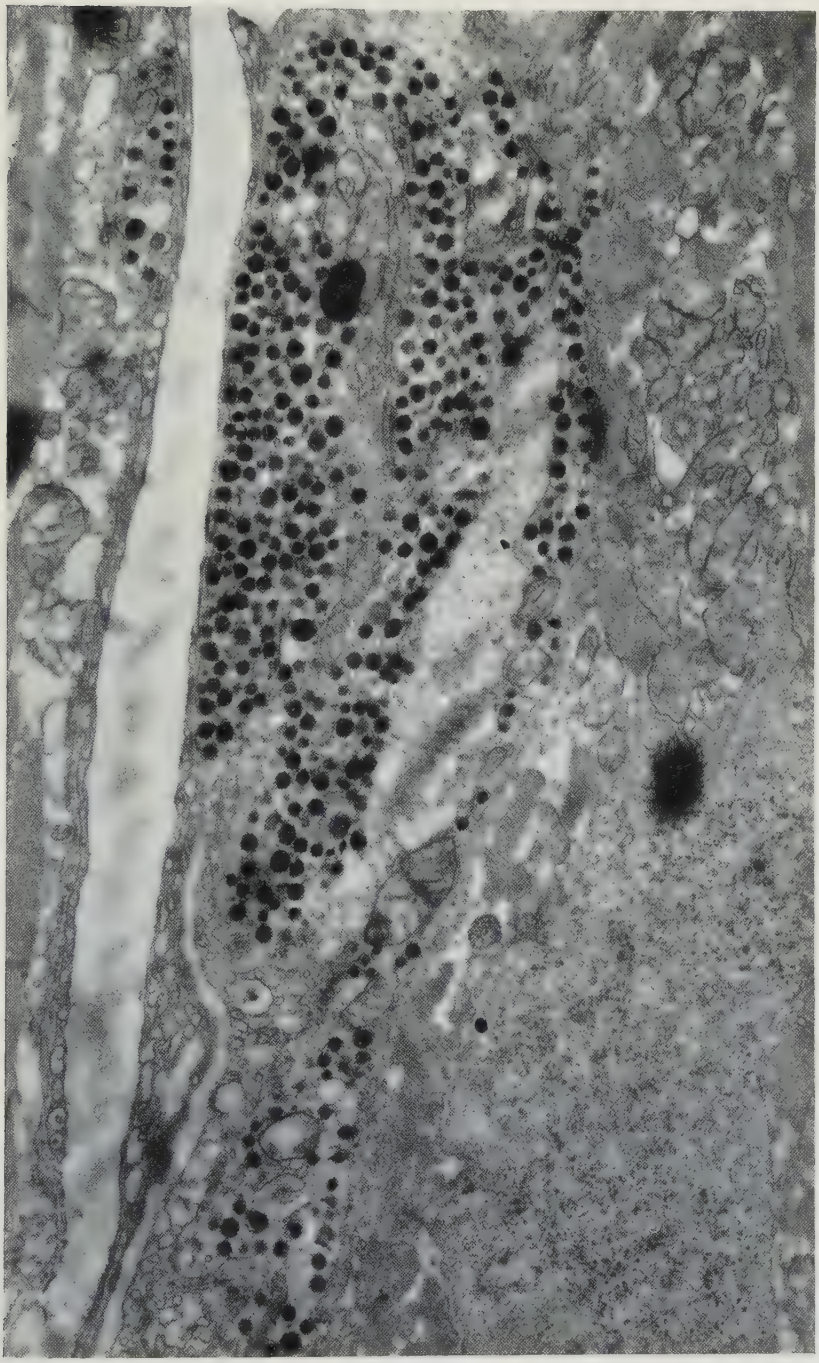

Fig. 3. Dans la moitié gauche du cliché un espace capillaire avec sa mince frange endothéliale. De chaque côté de ce capillaire une cellule interstitielle avec de nombreux granules sécrétoires (forme de stockage). Grossissement 17 500 : 1

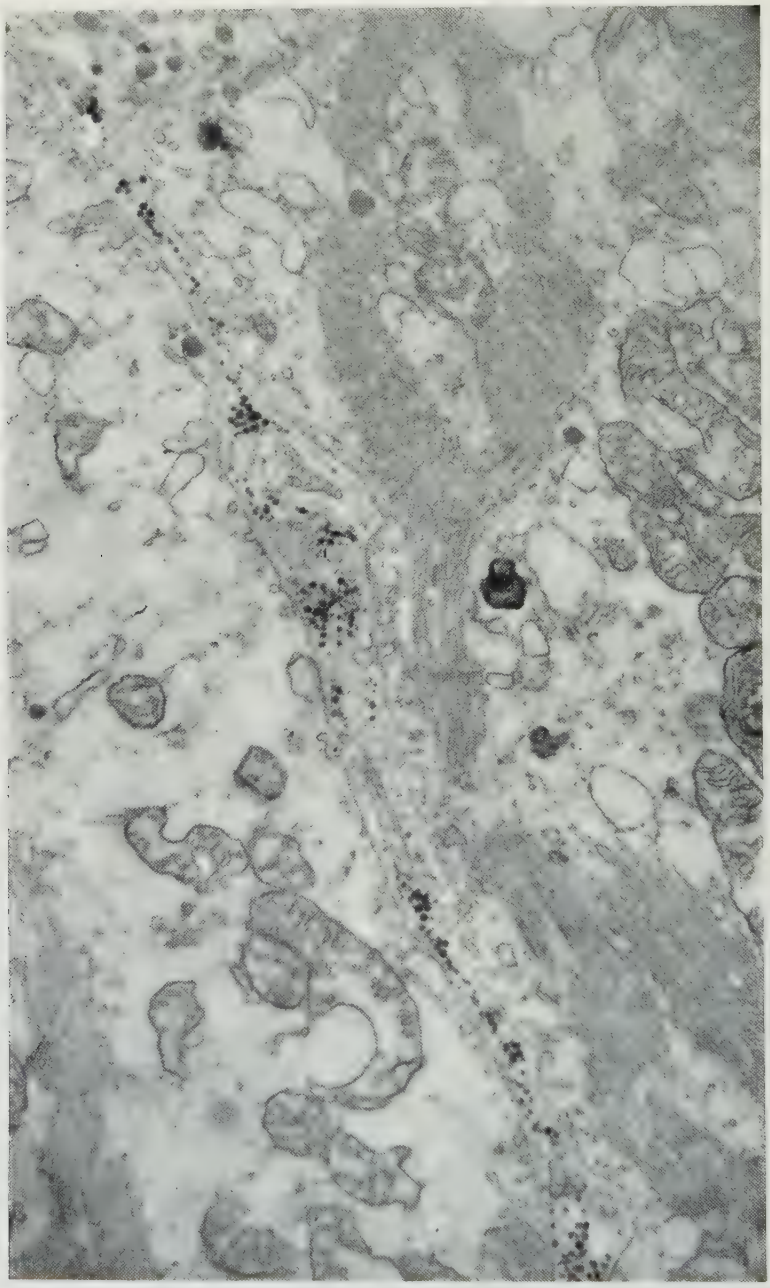

Fig. 4. Interstice courant diagonalement entre des cellules musculaires dans l'oreillette de *Myxine glutinosa*. Grand nombre de petits granules sécrétoires (forme de transport). Grossissement 25000:1

Les cellules musculaires sont complètement couvertes par une membrane plasmatique qui montre une vésiculation importante du côté de l'espace interstitiel. Les cellules capillaires endothéliales présentent des invaginations de la membrane plasmatique ainsi qu'un grand nombre de vésicules.

Entre les cellules musculaires on peut trouver des espaces étroits remplis de tissu connectif et parfois des faisceaux de collagène.

En aucun cas des éléments nerveux n'ont pu être observés ni dans l'oreillette ni dans le ventricule; mais il existe des cellules, tant auriculaires que ventriculaires, qui renferment des granules d'apparence foncée et qui rappellent les cellules neuro-sécrétoires. En outre nous avons observé de tels granules adiélectroniques (S. L. Palay et L. J. Karlin, 1959) dans la substance myocardique de l'oreillette et du ventricule (Fig. 1 et 2).

Pour déterminer la taille des granules nous avons mesuré le diamètre photographique de 601 granules. Leur diamètre moyen s'est avéré de 111 ± 21 mμ. Le fait que la déviation standard des diamètres mesurés est, avec sa valeur de 0,194, considérablement inférieure à la valeur-limite inférieure de 0,29 donnée par F. Lenz (1956) pour des sphères de diamètres uniformes et que des diamètres non-uniformes donneraient une valeur encore plus grande peut s'interpréter de deux façons:

1. l'épaisseur des coupes n'est pas petite par rapport au diamètre des sphères mais lui est comparable;

2. une partie des granules n'est pas sphérique.

Etant donné l'ordre de grandeur des particules considérées et l'absence de particules granulaires non-sphériques dans nos microphotographies, on peut conclure que c'est la première interprétation qui est valable. Le diamètre moyen réel des granules ne sera par conséquent que légèrement supérieur au diamètre moyen mesuré puisque l'on peut considérer que les clichés intéressent très généralement des projections parallèles des granules[1].

Quoique la plupart des granules apparaissent complètement noirs et unis, quelques-uns sont diélectroniques au milieu ou en bordure. D'autres montrent à fort grossissement une structure finement granulaire. Un faible nombre de granules est entouré de façon très remarquable par une membrane. Il existe entre cette membrane et la structure adiélectronique interne une frange étroite diélectronique. Les granules se trouvent surtout de façon sporadique (Fig. 1) mais aussi accumulés (Fig. 2) dans les cellules musculaires du coeur.

Il ne semble pas y avoir de corrélation directe entre les granules, les mitochondries, le reticulum endoplasmique et la substance contractile.

La Fig. 3 démontre l'existence de nombreux granules dans deux cellules interstitielles situées de part et d'autre d'un capillaire bordé de petites cellules endothéliales. En plus des grands granules chromaffines qui sont principalement localisés dans les cellules musculaires elles-mêmes et aussi dans les cellules interstitielles, des granules osmiophiles plus petits (diamètre moyen = 26,0 mμ) ont pu être décelés dans l'espace intercellulaire. La Fig. 4 montre un grand nombre de ces granules entre deux cellules musculaires. Dans cette région une intense vésiculation du sarcolemme est manifeste.

Discussion

Nos présentes observations sur la structure fine des cellules musculaires cardiaques de *Myxine glutinosa* sont en accord avec les recherches de Jensen

[1] Nous sommes redevables à Mr. M. Hahn des calculs et de la discussion de ces mesures.

et du groupe de U. S. v. Euler. Quoiqu'on n'y ait pas noté la présence d'éléments nerveux, plusieurs granules sécrétoires rappelant des neuro-sécrétions ont été trouvés. Remarquons que D. Jensen (1961) notamment décrit des granules chromaffines dans des «cellules sécrétoires atypiques» du ventricule d'un Myxinoïde américain; nous soulignons que nous avons trouvé des granules sécrétoires aussi bien dans les cellules interstitielles que dans les cellules musculaires et ceci autant dans l'oreillette que dans le ventricule de *Myxine glutinosa*. Nous pensons devoir attirer particulièrement l'attention sur cette répartition auriculaire et ventriculaire des granules au regard de la mise en évidence (B. Rybak 1959, 1960) d'un automatisme contractile prolongé dans tout fragment auriculaire ou même ventriculaire.

En ce qui a trait aux ressemblances entre ces granules sécrétoires du coeur de Myxine et les granules neuro-sécrétoires des cellules nerveuses qui ont été découverts dans différentes familles d'animaux par de nombreux auteurs, nous remarquerons avec Hillarp, Hökfeld et Nilson (1954) et avec Sjöstrand et Wetzstein (1956) que de tels granules peuvent renfermer des catécholamines et ceci, dans notre cas, s'accorde avec les observations ayant trait aux catécholamines de E. Östlund (1954), de R. Fänge et E. Östlund (1954) et de E. Östlund et ses collaborateurs (1960). Nous considérons que les granules cardiaques qui ont un diamètre de 111 mμ représentent une forme de stockage de ces hormones, ce qui n'implique pas qu'elles soient produites là ou elles sont stockées. En ce qui concerne les petits granules de 26 mμ, dont la présence est très régulière, nous considérons qu'il s'agit d'une forme de transport de ces hormones. Il est possible que les «cellules sécrétoires atypiques» ou que les «cellules granulaires spécifiques» ou encore que les «cellules interstitielles» représentent les lieux de formation de ces hormones.

Résumé

1. Aucune innervation n'a pu être décelée au microscope électronique dans la musculature du coeur branchial de *Myxine glutinosa*.

2. De nombreux granules sécrétoires sont mis en évidence, qui représentent probablement une forme de stockage de catécholamines, dans les cellules interstitielles et dans les cellules musculaires de l'oreillette et du ventricule de *Myxine glutinosa*.

3. Un grand nombre de plus petits granules sécrétoires ont également été mis en évidence qui représentent probablement une forme de transport des catécholamines.

Bibliographie

Augustinson, K. B., R. Fänge, A. Johnels and E. Östlund: Histological, physiological and biochemical studies on the heart of two cyclostomes, hagfish (Myxine) and Lamprey (Lampetra). J. Physiol. (Lond.) **131**, 257—276 (1955).

Carlson, A. J.: Contributions to the physiology of the heart of the California hagfish (Bdellostoma dombeyi). Z. allg. Physiol. **4**, 259—288 (1904).

Fänge, R., and E. Östlund: The effects of adrenaline, noradrenaline, tyramine and other drugs on the isolated heart from marine vertebrates and a cephalopod (Eledone cirrosa). Acta zool. (Stockh.) **35**, 289—305 (1954).

Greene, Ch. W.: Contribution to the physiology of the california hagfish, Polistotrema stoutii. II. The absence of regulative nerves for the systemic heart. Amer. J. Physiol. **6**, 318—324 (1902).

Hillarp, N. Å., B. Hökfeld and B. Nilson: The cytology of the adrenal medullary cells with special reference to the storage and release of the sympathomimetic amines. Acta physiol. scand. **31**, Suppl. 113, 79—107 (1954).

Jensen, D.: Role of acetylcholine in cardiac automatism. Fed. Proc. **16**, 291 (1957).

— Some observations on cardiac automatism in certain animals. J. gen. Physiol. **42**, 280—302 (1958).

— Cardioregulation in an aneural heart. Comp. Biochem. Physiol. **2**, 181—201 (1961).

Lenz, F.: Zur Größenverteilung von Kugelschnitten. Z. wiss. Mikr. **63**, 50—56 (1956).

Östlund, E.: The distribution of catechol amines in lower animals and their effect on the heart. Acta physiol. scand. **31**, Suppl. 112 (1954).

—, G. Bloom, J. Adams-Ray, M. Ritzén, M. Siegman, H. Nordenstam, F. Lishajko and U. S. von Euler: Storage and release of catecholamines, and the occurence of a specific submicroscopic granulation in hearts of cyclostomes. Nature (Lond.) **188**, 324—325 (1960).

Palay, S. L., and L. J. Karlin: An electron microscopic study of the intestinal villus. I. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 363—372 (1959).

Rybak, B.: Inhibition et restauration des contractions automatiques du myocarde branchial isolé de *Myxine glutinosa* L. J. Physiol. (Paris) **51**, 631—637 (1959).

— Existence d'un automatisme contractile dans le ventricule du coeur branchial de *Myxine glutinosa* L. C. R. Acad. Sci. (Paris) **251**, 1185—1187 (1960).

— Observing the heart in action. New Scientist **10**, 437—439 (1961).

—, et P. Boivinet: Caractères biochimiques du coeur branchial de *Myxine glutinosa*. C. R. Acad. Sci. (Paris) **249**, 2231—2233 (1959).

Sjöstrand, F. S., u. R. Wetzstein: Elektronenmikroskopische Untersuchungen der phäochromen (chromaffinen) Granula in den Markzellen der Nebenniere. Experientia (Basel) **12**, 196—199 (1956).

Dr. Heinz Hoffmeister,
Institut für Biophysik und Elektronenmikroskopie
der Medizinischen Akademie Düsseldorf, Moorenstr. 5

Zeitschrift für Zellforschung 55, 818—832 (1961)

Aus dem Pathologischen Institut (Prof. Dr. W. Masshoff)
und der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie an der Freien Universität Berlin
(Prof. Dr. W. Schwarz)

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN AN DER SCHALENHAUT UND KALKSCHALE DES HÜHNEREIES

Von

W. Masshoff und H.-J. Stolpmann

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. August 1961)

Einleitung

Das Hühnerei mit seinen während der Wanderung durch den Ovidukt appositionell erworbenen tertiären Hüllen ist schon häufiger Gegenstand morphologischer, chemischer und physikalischer Untersuchungen gewesen (Abderhalden und Ebstein 1906; Clevisch 1913; Giersberg 1923; Froboese 1928; Block und Vickery 1931; Calvery 1933; Moran und Hale 1935; Patten 1948; Romanoff und Romanoff 1949; Benoit 1950; Wolken 1951; Simon 1956; Simkiss und Tyler 1957; Koch 1959; W. J. Schmidt 1957, 1958, 1960).

Eine dieser Hüllen ist die Schalenhaut, Eischalenhaut (Blasius), Faserhaut (Landois), shell-membrane (Romanoff und Romanoff) oder membrane coquillière (Benoit). Sie stellt nach den über 100 Jahren zurückliegenden Untersuchungen von Coste (1847) (zit. nach Giersberg, Romanoff und Romanoff) ein Sekretionsprodukt der Drüsenzellen des Isthmusteiles des Oviduktes dar und umgibt als etwa 0,06 mm dicke Membran die Albumenschicht des Eies. Dabei liegt sie der Kalkschale relativ fest an und ist nur präparatorisch teilweise von ihr zu lösen.

Die Schalenhaut gliedert sich in zwei Lagen; die innere ist etwa 0,015 mm, die äußere etwa 0,05 mm dick (Romanoff und Romanoff). Diese Membran ist zellfrei und besteht aus einem festen engmaschigen faserigen Netzwerk, das nach den Untersuchungen von Abderhalden und Ebstein (1906) keratinhaltig ist. Diese Feststellung haben Block und Vickery (1931), Calvery (1933) sowie Moran und Hale (1935) bestätigt und dahingehend erweitert, daß es sich um ein fast reines Keratin mit einem relativ hohen Schwefelgehalt handelt. Außerdem gelang es Moran und Hale, histochemisch einen Mucopolysaccharid-Komplex nachzuweisen. Nach Röntgeninterferenzanalysen von Wolken (1951) ist das Keratin der Schalenhaut ein α-Keratin.

Die Kalkschale des Hühnereies, ebenfalls ein Sekretionsprodukt der uterinen Drüsen, besteht aus drei Lagen. Die innere sog. Mamillenschicht ist mit der Schalenhaut verhaftet; an sie schließen sich eine Spongiosa und eine zarte Cuticula als äußere Abschlußmembran an. Die anorganische Substanz der Kalkschale besteht zu 95—97% aus Calciumkarbonat, der Rest aus Magnesiumkarbonat und Calcium-Magnesiumphosphat (Lit. Koch; Romanoff und Romanoff). In diesem Zusammenhang sei auf neue Untersuchungen von Siegmund und Dulce (1960) hingewiesen, die den Calciumstoffwechsel mit seinen Auswirkungen auf den Calciumgehalt der Eierschale bei Legehennen unter dem Einfluß des Carboanhydratase-Inhibitors Diamox studierten.

Nach eigenen licht- und phasenoptischen Untersuchungen besitzen Schalenhaut und Kalkschale eine nach einem bestimmten Muster aufgebaute faserige Textur. Diese Gebilde haben wir einer submikroskopischen Strukturanalyse unterzogen und dabei auch ihr Verhalten nach enzymatischen Maßnahmen geprüft. Dabei interessierte insbesondere die Art und Weise, wie die faserigen Strukturen mit der lichtmikroskopisch nicht näher faßbaren zwischenfaserigen Substanz in Verbindung stehen. Denn erst durch diese beiden Anteile sind Struktur und Funktion einer biologischen Membran verwirklicht. Die sekretorisch entstandene und wegen ihrer Zellosigkeit tote Membran erschien uns als geeignetes Objekt für Vergleiche mit der zellulierten lebenden Membran.

Um Mißverständnissen zu begegnen, sei darauf hingewiesen, daß mit dem in dieser Arbeit gebrauchten Terminus „Faser" lediglich die faserige Erscheinungsform eines epithelialen Sekretionsproduktes charakterisiert wird. Diese Faser ist zwar morphologisch mit den spezifischen mesenchymalen Fasertypen vergleichbar, hat aber formalgenetisch mit diesen nichts zu tun.

Material und Methodik

Für die Untersuchungen wurden frische, nicht über 48 Std alte Eier verwendet. Die aus der Kalkschale gelöste Schalenhaut wurde licht-, phasen- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Für die lichtmikroskopischen Untersuchungen wurde das Material in Carnoyschem Gemisch für 3 Std oder in Formalin (1:4) für 12 Std fixiert, über Methylbenzoat in Paraffin eingebettet und zur Darstellung der Fasern und Interfibrillarsubstanz gefärbt. Der Nachweis von Keratin wurde nach den Angaben von Fullmer und Lillie (1956) versucht.

Die Kalkschale wurde in 50%iger Ameisensäure entkalkt, die organische Restsubstanz gewogen und für die lichtmikroskopischen Untersuchungen — wie angegeben — in Paraffin eingebettet und gefärbt. Außerdem wurde die nicht entkalkte Kalkschale in Gefrierschnitten untersucht.

Das Trockengewicht der Kalkschale mit und ohne Schalenhaut wurde bestimmt.

Die unfixierte Schalenhaut wurde mit folgenden Fermenten behandelt: Hyaluronidase (Kinetin, Schering, Gibian) 150 IE und 400 IE in 2 ml physiologischer NaCl-Lösung; Trypsin 0,3%ig, gepuffert, nach Romeis; Papain, 0,1%ig (p_H 6,8), 1%ig (p_H 6) und 2%ig (p_H 7), jeweils mit Na-Bisulfit gepuffert (Lipp, Blackburn). Inkubiert wurde für 5—30 min und für 24 Std bei einer Temperatur von 37—40°.

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurde die Schalenhaut mit 1%igem Osmium-Tetroxyd (p_H 7,42) (Palade) und in 2%iger gepufferter $KMnO_4$-Lösung (p_H 7,42) (Luft) für 1 Std fixiert und in einem Gemisch von Butyl-Methyl-Acrylat im Verhältnis 90:10 eingebettet. Wegen der durch die elastische Komponente des Keratins bedingten Beeinträchtigung der Bildqualität durch „shatter-Bildung" wurde zusätzlich nach Dettmer mit Phosphor-Molybdän-Säure fixiert; diese Fixation ergab jedoch keine merkliche Verbesserung gegenüber der Osmium-Fixierung. Nach dem Vorschlag von Dettmer zur Gewinnung eines sog. „Negativbildes" elastische Fasern langfristig in OsO_4 zu fixieren, wurde die Schalenhaut 24, 48 und 72 Std der üblichen Osmiumfixierung ausgesetzt.

Ferner wurde die Kalkschale mit und ohne Schalenhaut nach Entkalkung für die Elektronenmikroskopie mit Osmium-Tetroxyd fixiert und eingebettet. Die Fixierung der nicht entkalkten Kalkschale erfolgte in einer 1%igen gepufferten Osmium-Lösung (p_H 7,42) für 4 Std und die Einbettung in einem höherpolymerisierten Butyl-Methyl-Acrylatgemisch von 85:15.

Die Mukopolysaccharid-Komponente im Keratingerüst der Schalenhaut versuchten wir elektronenmikroskopisch durch Darstellung der CHOH—CHOH-Gruppen nachzuweisen (Dettmer u. Schwarz 1954).

Außerdem wurde die in Analogie zur Darstellung kollagener Fibrillen die mit dem Gefriermikrotom zerlegte Schalenhaut mit einem Siemens-Beschallungsgerät bis zu einer Frequenz von 10 kH behandelt. Die Beschallungsdauer betrug 20 min bis zu 24 Std (Schwarz und Merker 1959).

Durch nachträgliche Schrägbedampfung des mit Ultraschall behandelten Materials mit Paladium oder eine Nachkontrastierung durch Phosphor-Wolfram-Säure, Lugolsche Lösung, $KMnO_4$ und Uranyl-Azetat haben wir eine Kontrasterhöhung zu erzielen versucht.

Ähnlich wie bei kollagenen Fibrillen wurde die Löslichkeit der Schalenhautfasern in Essigsäure verschiedener Konzentration untersucht.

Analog dem Vorgehen bei Haaren wurde die Schalenhaut einer Kalilauge ausgesetzt; in erhitzter 1%iger KOH löst sie sich auf. Durch Zusatz weniger Tropfen einer 5%igen Essigsäure fallen in der erhaltenen Lösung fädige Gebilde aus.

Die Dünnschnitte wurden mit dem Mikrotom nach Porter-Blum (Glasmesser) hergestellt; für die Schnitte der nicht entkalkten Kalkschale wurde ein Diamantmesser verwendet. Die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit einem Elektronenmikroskop EM 8-II (Zeiss) bei einer Strahlspannung von 40 kV und dem Elmiskop I (Siemens) bei einer Strahlspannung von 60 kV gemacht.

Ergebnisse

In gefärbten und ungefärbten Durch- und Flachschnitten stellt sich die Schalenhaut licht- und phasenoptisch als ein verhältnismäßig regelmäßig aufgebautes, gitterförmig verzweigtes Faserwerk dar. Weitere Details und Strukturen zwischen den Fasern sind nicht zu erkennen. In Kantenschnitten wird ein engmaschiges dreidimensionales Fasernetzwerk deutlich, dessen Außenzone viel engere Poren als die Innenzone besitzt. Infolge der dadurch gegebenen dichteren Lagerung der Fasern kommt eine Art von Zweischichtung zum Vorschein.

Die Fasern lassen sich mit den üblichen Bindegewebefärbungen tingieren. Sie verhalten sich gegenüber der Elastika-Färbung und der Metachromasie negativ. Die PAS-Reaktion fällt an den Fasern deutlich positiv aus, wobei die Färbungsintensität von außen nach innen allerdings bemerkenswerterweise abnimmt. Die Fasern erscheinen homogen und ohne besondere Struktur, sind reich verzweigt und in der inneren Schicht dünner als in der Außenschicht. Nach Oxydierung mit $KMnO_4$ und H_2SO_4 (Gomori) und anschließender Orcein-, Aldehyd-Fuchsin- und Resorcin-Fuchsin-Färbung ist eine für Keratin positive Reaktion (Fullmer und Lillie) zu erzielen.

Die Schicht mit den dünneren Fasern ist auf der Innenseite ziemlich glatt und geht außen allmählich in das dichtere Netzwerk mit den dickeren Fasern über. Die Außenzone zeigt keinen glatten Abschluß, sondern häufig kolbig aufgetriebene „Faserabbrüche", die mit einzelnen, amorph erscheinenden kugeligen Kalkgebilden in Verbindung stehen und den Übergang in die Kalkschale darstellen. Die Zwischenräume zwischen den faserigen Strukturen erscheinen optisch leer.

Die organische Substanz der entkalkten Schale, die etwa 3,3% des Gesamtgewichts der Kalkschale ausmacht (vgl. Romanoff und Romanoff), enthält die gleichen faserigen Elemente wie die Schalenhaut und zeigt ein gleichartiges färberisches Verhalten. Dieses Faserwerk bildet offensichtlich das Gerüst für die Kalkschale bei der Verkalkung. Der Wassergehalt der Kalkschale beträgt durchschnittlich 1,6% des Gesamtgewichts.

Nach der fermentativen Behandlung zeigen die Fasern proportional zur Einwirkungszeit eine allerdings nur geringe Abnahme der Färbungsintensität bei allen Methoden der Faserdarstellung. Am deutlichsten nimmt die Färbung bei der PAS-Reaktion ab. Die Fasern erscheinen nach diesen Maßnahmen etwas gequollen und leicht opak, eine Innenstruktur ist aber nach wie vor nicht erkenn-

bar. Der letztgenannte Effekt ist deutlicher nach Behandlung mit Hyaluronidase als nach Trypsin-Einwirkung. Die faserigen Elemente werden nicht aufgelöst. In der nicht entkalkten Kalkschale sind die Faserzwischenräume mit Kalkpartikeln ausgefüllt; weitere Einzelheiten sind nicht zu erkennen.

Phasen- und lichtmikroskopisch läßt also die Schalenhaut lediglich einen in zwei Schichten angeordneten Faserfilz mit optisch leeren Zwischenräumen erkennen. Dieser Filz dient auch als Gerüst der Kalkschale. Durch verschieden lange Einwirkung von Trypsin und Hyaluronidase in verschiedenen Konzentrationen ist außer einer leichten Quellung der faserigen Elemente nur eine geringe Veränderung ihrer Färbungsintensität zu erzielen. Über die Beziehungen zwischen Fasern und Zwischensubstanz und über die Feinstruktur der Fasern läßt sich lichtmikroskopisch nichts aussagen.

Elektronenmikroskopisch löst sich die lichtoptische Homogenität der Schalenhautfasern auf. Es kommt nunmehr eine deutliche Zweischichtung zum Vorschein, eine weniger elektronendichte, stellenweise angedeutet granulierte äußere Schicht und eine weitgehend homogene, elektronendichtere Innenschicht; letztere scheint der eigentlichen Faser zu entsprechen, die Außenschicht scheint eine Hüllsubstanz darzustellen (Abb. 1). Im Mittel beträgt die Dicke der Fasern 0,8—1 μ, die der Hüllsubstanz etwa 0,5 μ. Zwischen Faser und Hülle ist vielfach ein optisch leer erscheinender Spaltraum zu erkennen mit einer Breite von 0,3—0,1 μ; durch ihn verlaufen zarte Querverbindungen mit einem Durchmesser von 0,0016 μ. Diese Spalträume schwanken zwar in ihrer Breite, werden aber selbst nach 24stündigem Aufenthalt der Schalenhaut in Aqua dest. oder in physiologischer NaCl-Lösung nicht größer, verschwinden andererseits auch nicht. Danach kann es sich bei diesen Spalträumen nicht um einen Hydratationseffekt handeln, zumal in der Hüllsubstanz bei der genannten Behandlung als Folge der Wasseraufnahme eine gewisse Strukturauflockerung auftritt; sie tritt in Form von Poren mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 100 Å in Erscheinung. Bei Vergrößerungen bis an die Grenze des Auflösungsvermögens sind in längsgeschnittenen Fasern stellenweise parallel verlaufende feinste Filamente mit einer Breite von etwa 30—40 Å zu erkennen (Abb. 2). Die Fasern stehen untereinander in Verbindung und bilden mit ihrer Hüllsubstanz ein zusammenhängendes Netz. Die unterschiedlich großen Faserzwischenräume erscheinen auch elektronenoptisch leer.

Das organische Gerüst der entkalkten Kalkschale besitzt die gleichen faserigen Elemente. Die Räume zwischen diesen netzig angeordneten Fasern zeigen allerdings ein anderes Bild: In ihnen ist ein weiteres, unregelmäßig gestaltetes feinreticuläres Netz mit länglich-ovalen bis runden Poren (Durchmesser etwa 0,0001 μ) ausgespannt. Dieses „Mikronetz" steht nur mit der Hüllsubstanz der Gerüstfasern in Verbindung und verhält sich elektronenoptisch auch wie jene. Offensichtlich handelt es sich um ein Produkt der Hüllsubstanz. In den nicht entkalkten Schnitten sind die Poren des „Mikronetzes" nicht sichtbar; sie sind mit länglich-ovalen bis runden, elektronendichten Substanzen etwa in der Größenordnung von 10^{-2} bis 10^{-4} mm ausgefüllt. Somit können die Einschlüsse größenordnungsmäßig den Kristalliten zugerechnet werden (Bourne, Leuthardt). Fasern und die Hüllsubstanzen zeigen derartige Einlagerungen nicht (Abb. 5 und 6).

Nach längerer Osmiumfixierung, womit Dettmer ein „Negativbild" von elastischen Fasern zu erzeugen versuchte, zeigen die Schalenhautfasern eine deutliche Verdichtung der

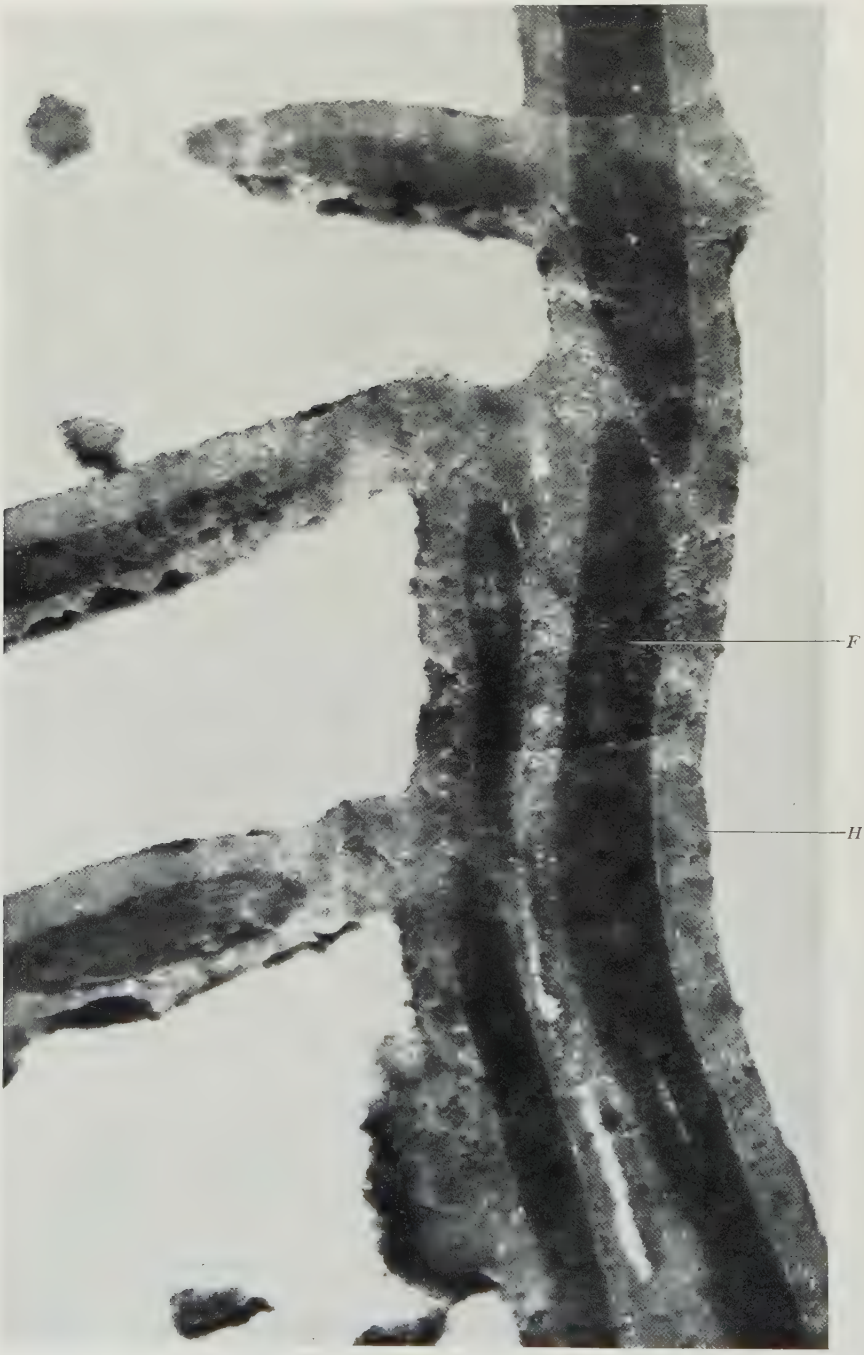

Abb. 1. Faser der Schalenhaut im Längsschnitt ($KMnO_4$-Fixierung). Vergrößerung 1:26000. (Keratinfaser *F*, Hüllsubstanz *H*)

Hüllsubstanz und eine Verbreiterung des Spaltraumes zwischen dieser und der eigentlichen Faser, wobei deren Dicke konstant bleibt.

Abb. 2. Innenstruktur der Keratinfaser. Parallel verlaufende Filamente (Pfeile). Vergrößerung 1:180000

Nach Behandlung der nativen, unfixierten Schalenhaut mit Trypsin, Hyaluronidase und Papain sind Effekte vornehmlich an der Hüllsubstanz der faserigen

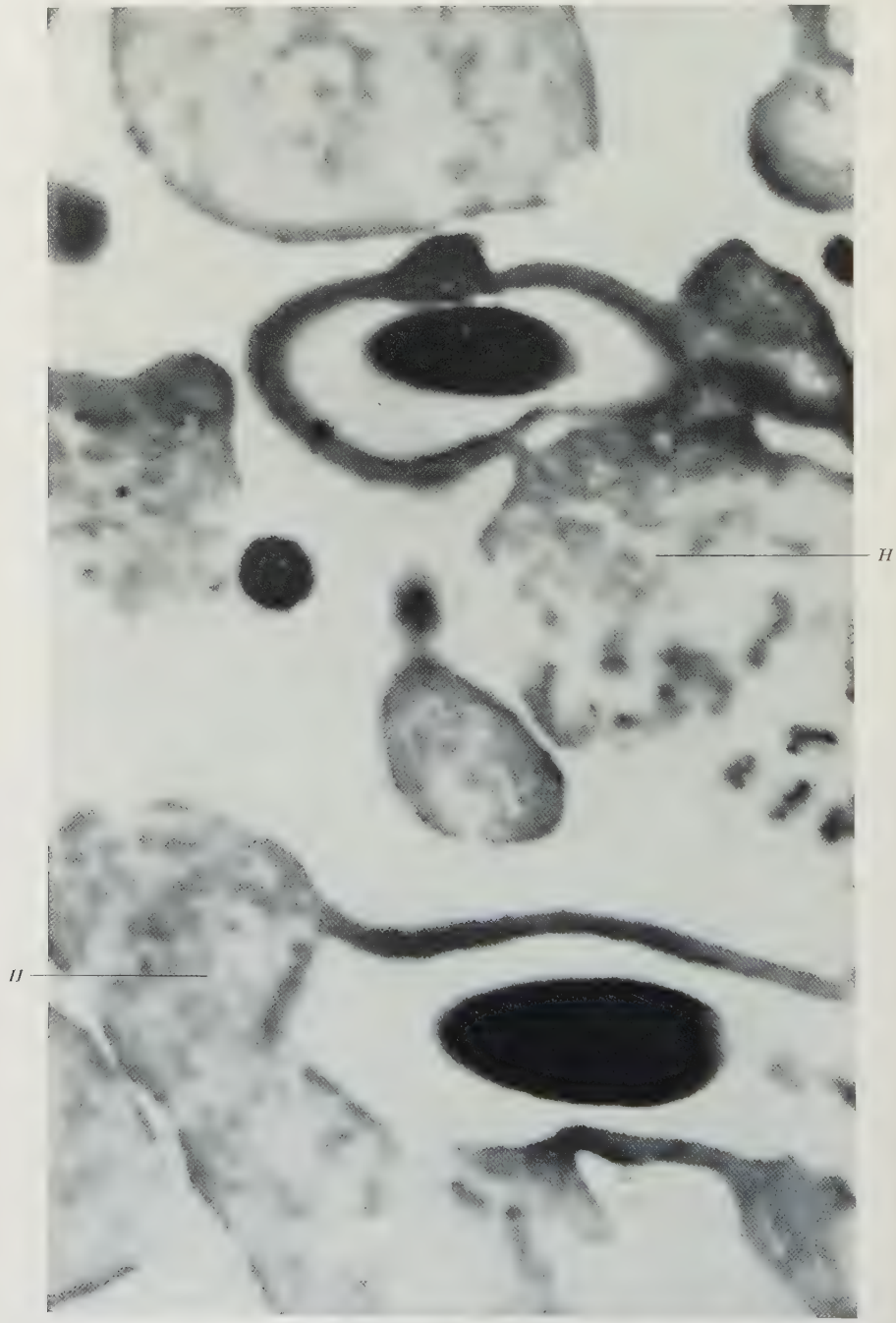

Abb. 3. Schalenhaut nach Hyaluronidase-Behandlung. Beeinträchtigung der Hüllsubstanz (*H*). Vergrößerung 1:22000

Elemente zu erzielen, die eine direkte Beziehung zum Konzentrationsgrad der Fermentlösungen und zur Dauer der Inkubation aufweisen. Zunächst wird die

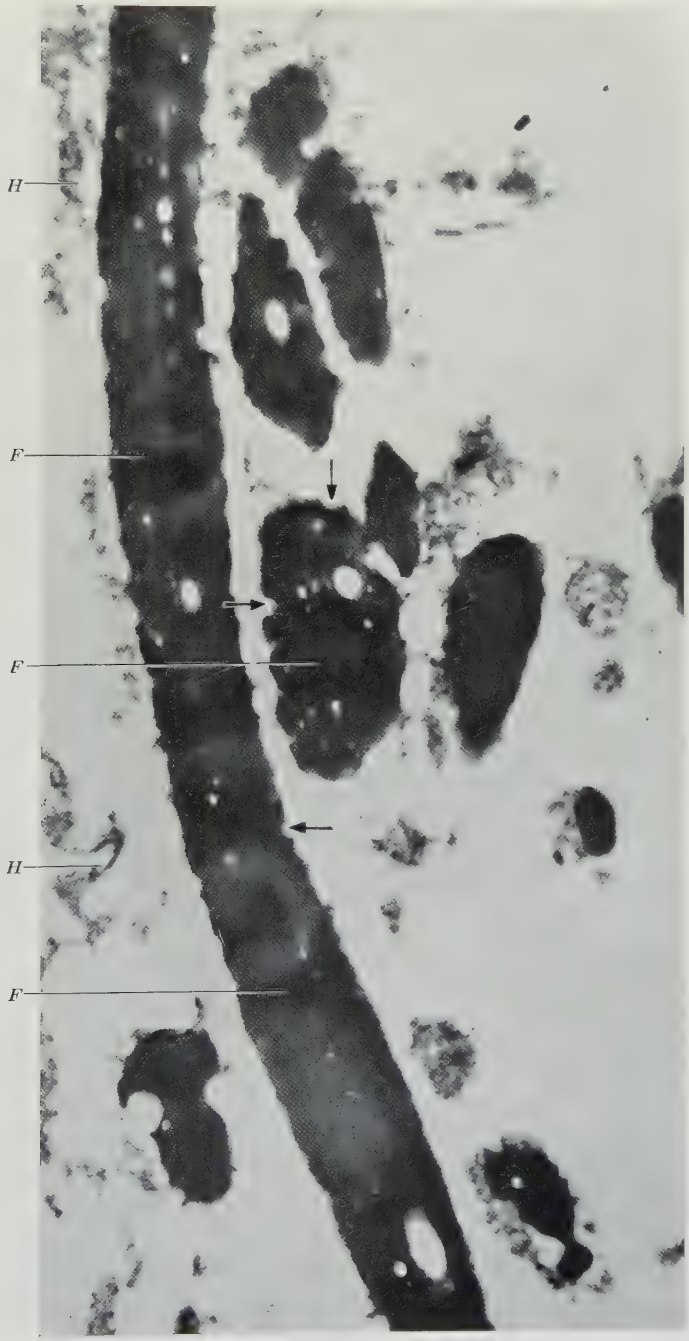

Abb. 4. Schalenhaut nach Papain-Behandlung. Weitgehende Auflösung der Hüllsubstanz (*H*). Aufrauhung (Pfeile) der Keratinfaser (*F*). Vergrößerung 1:20000

Hüllsubstanz vakuolig und porös, dann verringert sich ihre Substanz zunehmend bis auf eine schmale elektronendichtere Zone, die ballonartig aufgetrieben ist

Abb. 5. Kalkschale nach Entkalkung. Fasern (*F*) mit Hüllsubstanz (*H*), dazwischen ausgespartes Mikronetz (*M*). Vergrößerung 1:20000

und anscheinend wenige regellos verteilte, unregelmäßig gestaltete Partikel enthält. Dieser Effekt ist bereits nach einer Inkubation von 30 min in der Hyaluro-

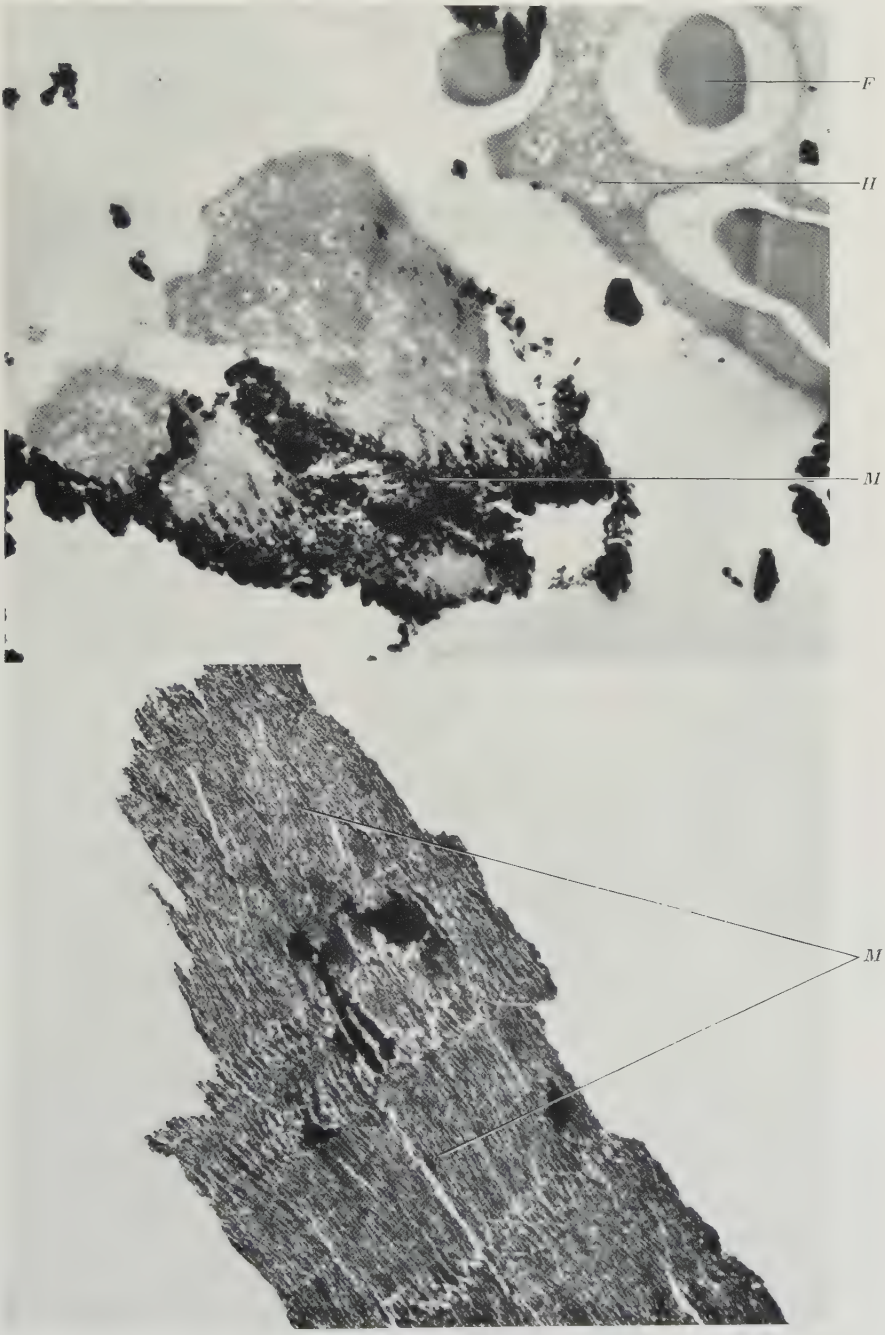

Abb. 6. Nicht entkalkte Kalkschale. Kalkpartikel im Mikronetz (*M*). Keratinfaser (*F*) und Hüllsubstanz (*H*) kalkfrei. Vergrößerung 1:20000

nidase-Lösung erreicht und weder durch höhere Konzentration noch durch längere Inkubation zu verstärken (Abb. 3). Nach der Behandlung mit 1%iger Papain-Lösung (p_H 6,0) läßt sich nach einer Inkubation von 24 Std keine zusammenhängende Hüllsubstanz mehr nachweisen. Es sind dann lediglich einige unregelmäßig gestaltete Partikel zu erkennen. Dabei wird auch die Faser beeinträchtigt; ihre Randpartien erscheinen nicht mehr glatt, sondern sehen wie angenagt aus, wobei gleichzeitig größere leere Bläschen in ihr auftreten (Abb. 4). Die Faser ist mit den angewandten Verfahren nicht vollständig aufzulösen. Eine Demaskierung der Filamente ist nicht zu erreichen.

Die fermentativen Effekte an der Hüllsubstanz sind nicht einheitlich. Nach Behandlung mit Hyaluronidase bleibt ein beträchtlicher Teil der Hüllsubstanz erhalten, während sie durch Papain weitgehend zum Schwund zu bringen ist. Trypsin hat einen ähnlichen, aber viel geringeren Einfluß auf die Hüllmasse als Hyaluronidase.

Die Darstellung von CHOH—CHOH-Gruppen in Mukopolysacchariden (Dettmer und Schwarz) gelang nicht. Offensichtlich sind Faser und Hüllsubstanz zu dicht, als daß die durch Versilberung darstellbaren CHOH—CHOH-Gruppen sichtbar würden.

Ebenso war durch Ultraschallbehandlung (Schwarz und Merker) der Schalenhaut eine Trennung in Grundsubstanz und Fibrillen wie bei Kollagenfasern nicht zu erreichen; die Objekte erwiesen sich als undurchstrahlbar. Durch Essigsäureeinwirkung ist ein dem Kollagen vergleichbarer Lösungseffekt nicht zu erzielen. Die Paladium-Schrägbedampfung und andere kontrasterhöhende Maßnahmen der Schnitte durch Phosphor-Wolfram-Säure, Lugolsche Lösung, $KMnO_4$ und Uranyl-Acetat) führten nicht zur Verbesserung der Strukturdarstellung.

Nach den elektronenmikroskopischen Befunden ist also festzustellen, daß die zu einem Netzwerk zusammengefügten faserigen Elemente aus zwei Komponenten, der eigentlichen *Faser* und der *Hüllsubstanz* bestehen, die durch zarte Brücken über einen Spaltraum miteinander verbunden sind. Die Hüllsubstanz ist durch Trypsin und Hyaluronidase zum Teil auflösbar und weitgehend durch Papain zu zerstören. Die stets von der Hüllsubstanz umgebene axial gelegene Faser ist aus *Filamenten* mit einem Durchmesser von 30—40 Å aufgebaut; ihre Struktur wird nur durch lang einwirkendes Papain in den Randzonen beeinträchtigt. In der Kalkschale ist zwischen den faserigen Elementen ein weiteres, mit der Hüllsubstanz kommunizierendes feinreticuläres und aus dem Material der Hülle bestehendes Netzwerk ausgespannt, in das die Calcit-Kristalle eingelagert sind. Die Fasern mit ihrer Hüllsubstanz enthalten keine Kalkbestandteile.

Besprechung

Wie eingangs bemerkt, ist die Schalenhaut ein Sekretionsprodukt der Drüsenzellen im Isthmusteil des Ovidukts. Sie dient einmal der Umhüllung der ebenfalls im Ovidukt, und zwar im Magnumabschnitt (Benoit) sezernierten viscösen Albumenschicht, zum anderen als Gerüstsubstanz für die im uterinen Segment des Ovidukts erfolgende Verkalkung. In den Drüsenzellen konnten intrazelluläre Sekretgranula nachgewiesen werden, die größenmäßig und in ihren färberischen Eigenschaften den im Lumen zu findenden entsprechen (Clevisch 1913, Giersberg 1923, Froboese 1928, Benoit 1950, Koch 1959). Nach den Untersuchungen von Lindwall (1881) und Liebermann (1888) (zit. nach Romanoff und Romanoff), von Abderhalden und Ebstein (1906), Block und Vickery (1931) und Calvery (1933) handelt es sich bei diesem Sekret um einen Eiweißkörper mit

relativ hohem Schwefelgehalt, der auf Grund seiner Zusammensetzung aus bestimmten Aminosäuren und einer entsprechenden quantitativen Verteilung derselben als Keratin anzusehen ist (vgl. Romanoff und Romanoff 1949; Leuthardt 1959). Durch histochemische Untersuchungen und durch den Nachweis einer Mukopolysaccharid-Komponente (Moran und Hale 1935; Simon 1956; Simkiss und Tyler 1957) mußte der chemisch-analytische Befund in dem Sinne erweitert werden, daß die Schalenhaut nicht etwa bloß aus Keratin besteht, sondern dieses als Hauptbestandteil enthält.

Einen wesentlichen Beitrag zur Aufdeckung der Struktur der Schalenhaut hat Wolken (1951) geliefert. Er untersuchte erstmals die Schalenhaut elektronenmikroskopisch und fand ein dichtes Fasernetzwerk mit einem Faserdurchmesser von 1—2 μ. Eine Auflösung der einzelnen faserigen Elemente in Hüllsubstanz und Faser ist Wolken ebensowenig gelungen wie der Nachweis von Filamenten. Durch Röntgeninterferenzuntersuchungen der Schalenhaut und durch Vergleich mit anderen Keratinsubstanzen konnte er an Hand der charakteristischen Diagramme nachweisen, daß es sich bei den faserigen Strukturen der Schalenhaut um ein α-Keratin handelt, und daß Unterschiede zum Keratin der Wolle, des Haares und des Seidenfibroins nicht bestehen. Durch die Untersuchungen mit Hilfe der Röntgeninterferenz gelang es, auch die Faserstruktur des Polypeptids Keratin weitgehend aufzuklären. Nach den gefundenen Interferenzwerten müssen gitterförmig angeordnete Fasern vorliegen, die untereinander durch Peptid-Bindungen und nebeneinander weiterhin durch Disulfid- und Wasserstoffbindungen verbunden sind und dadurch eine Art von Zick-Zack-Kette bilden (Astbury 1932, 1941; Lotmar und Picken 1942; Brill 1943; Huggins 1942, 1943; Zahn 1947; K. H. Meyer 1949; Flaschenträger 1951; Leuthardt 1959; Ammon und Dirschel 1959). Die Interferenzwerte lassen weiterhin den Schluß zu, daß entsprechend der Theorie von Pauling und Corey (zit. nach Leuthardt) die im Abstand von etwa 10 Å parallel verlaufenden Polypeptidketten in Form einer α-Helix schraubenförmig um eine zentrale Helix gewunden sind. Diese Anordnung trägt in sich die Möglichkeit einer Verlängerung und einer Verkürzung im Gegensatz zur gestreckten Faserform, dem β-Typ des Keratins.

Mit den vorliegenden Untersuchungen glauben wir den Aufbau der Schalenhaut weiter aufgeklärt zu haben. Die für die Textur der Schalenhaut verantwortlichen Fasern sind nach elektronenoptischem und histochemischem Verhalten zusammengesetzte Gebilde, die aus zwei stofflich verschiedenen Komponenten bestehen, einer *Außen-* und einer *Innenschicht*. Letztere stellt die eigentliche Faser dar; sie setzt sich aus *Filamenten* mit einem Durchmesser von 30—40 Å und einer *Matrix* zusammen, die die Filamente maskiert. Die Filamente verlaufen anscheinend nicht immer parallel, was entweder mit der elektronendichten Matrix oder mit ihrer schraubenartigen Anordnung zusammenhängt. Chemisch ist diese Matrix (cementing substance, intermicellar matrix) durch eine Proteinfraktion mit hohem Schwefelgehalt charakterisiert (Rogers 1959 a, b). Die zwischen den netzartig verwobenen faserigen Elementen gelegenen licht- und elektronenoptisch leeren Räume dienen offenbar der Stoffbewegung, z. B. der intrauterinen Wasseraufnahme und dem extrauterinen Gasaustausch (Clevisch 1913, Giersberg 1923, Benoit 1950).

Die nativ und im entkalkten Zustand untersuchte Kalkschale zeigt submikroskopisch entsprechend ihrer andersgearteten Bestimmung auch andere

„höher" entwickelte Strukturen. Ihr organisches Gerüst ist mit jenem der übrigen Schalenhaut identisch. Jedoch ist entgegen der Annahme von W. J. Schmidt (1958, 1960), nach der die fädige organische Substanz als zartes Netzwerk die Calcitkristalle durchzieht, aus unseren Beobachtungen zu schließen, daß die Calcitkristalle in die Hohlräume eines Mikronetzes eingelagert sind. Ein Einbau von Kalk in die Hüllsubstanz der Fasern ist nicht nachweisbar. Das der Kalkablagerung dienende Mikronetz ist eine Spezialstruktur der Hüllsubstanz, deren Bestandteile bei der Kalkausfällung wahrscheinlich eine Rolle spielen. Wie die Verkalkung im einzelnen vor sich geht, ist bisher nicht bekannt. Von der Verkalkung mesenchymaler Gewebe weicht sie sicher ab, wie aus der azellulären Entstehung einerseits, aus dem chemischen Charakter der aus Calciumkarbonat bestehenden Niederschläge andererseits geschlossen werden kann.

Ließen bereits die histochemischen Reaktionen auf den Keratincharakter der Fasern des Makronetzes schließen, so wurde die Keratinnatur elektronenmikroskopisch erhärtet durch den Nachweis von Filamenten, die offensichtlich von einer weitgehend strukturlosen Matrix maskiert sind. Der Vergleich mit elektronenmikroskopisch untersuchtem Keratin anderer Provenienz ergibt allerdings einen deutlichen Unterschied der Filamentdicke. Der Filamentdurchmesser im Keratin des Haares und der Wolle beträgt etwa 60 Å (Andrews und Sikorski: Hope, Sikorski und Whewell; Birbock und Mercer; Rogers 1959a, 1959b). der in den Schalenhautfasern 30—40 Å.

Die Auflösung der Schalenhaut in erhitzter 1%iger Kalilauge und die nachfolgende Ausfällung fädigen Materials durch 5%ige Essigsäure mit dem Auftreten von Gebilden, die einen Durchmesser von 160 Å besitzen, dürften wegen der erfolgten Denaturierung des Proteinkomplexes eine unspezifische Reaktion darstellen und zu weiteren Aussagen nicht berechtigen (Leuthardt 1959).

Daß die faserigen Elemente der Schalenhaut nicht nur aus Keratin bestehen, mußte lichtmikroskopisch aus dem positiven Ausfall der PAS-Reaktion besonders in den Randpartien der Fasern erschlossen werden. Der schon von Moran und Hale (1935), Simon (1956), Simkiss und Tyler (1957) histochemisch nachgewiesene Mukopolysaccharid-Komplex wurde nunmehr als ein besonderer Strukturbestandteil der Netzfasern der Schalenhaut erkannt. Das mukopolysaccharidhaltige Material umschließt die Keratinfasern hüllenartig und übernimmt offenbar die Rolle einer Kitt- oder Grundsubstanz. Genauere chemische Analysen dieser Substanz wurden bisher nicht durchgeführt. Nach den Ergebnissen unserer Versuche der fermentativen Beeinflußbarkeit der Hüllsubstanz scheint der Schluß erlaubt, daß die verwendeten Fermente den Mukopolysaccharid-Komplex gewissermaßen gezielt aufzuspalten imstande sind in dem Sinne, daß die Proteinfraktion der Hüllsubstanz durch Trypsin und Papain angreifbar ist, während sie durch Hyaluronidase unbeeinflußt bleibt.

Die elektronenoptische Analyse der Schalenhaut des Hühnereies gewährt interessante Einblicke in eine differenzierte strukturelle und stoffliche Organisation des offenbar zunächst unstrukturierten Sekretionsproduktes der Drüsenzellen des Ovidukts. Die Frage, wie die grobe Textur zustande kommt und wie die verschiedenen stofflichen Substrate, die aus Sekretionsleistungen verschiedener Zellen des Ovidukts resultieren, ohne unmittelbare zelluläre Mitwirkung geordnet und zusammengefügt werden, ist vorerst nicht zu beantworten. Die Tatsache, daß aus einem sezernierten Material eine differenzierte und für bestimmte Leistungen geeignete Membran aufgebaut werden kann, erscheint allgemein-

biologisch bedeutsam. Darüber hinaus ist die Erkenntnis wichtig, daß die Keratinbildung keineswegs ein Reservat ektodermaler Zellen ist.

Zusammenfassung

Die Schalenhaut des Hühnereis, eine azelluläre, durch Sekretion entstandene „tote" Membran, wurde nach orientierenden licht- und phasenoptischen Untersuchungen elektronenmikroskopisch analysiert. Verschiedene chemische, histochemische und fermentative Maßnahmen wurden herangezogen. Folgende Resultate wurden erzielt:

1. Die Schalenhaut ist eine faserig-netzige Membran. Die Faserelemente bestehen aus der eigentlichen, aus *Filamenten* aufgebauten *Keratinfaser*, die von einer *Hüllsubstanz* umgeben ist. Die Zwischenfaserräume sind optisch leer.

2. Die *Hüllsubstanz* ist nach ihrem färberischen Verhalten und nach ihrer Beeinflußbarkeit durch verschiedene Fermente *mukopolysaccharidhaltig*.

3. Die Kalkschale besitzt das gleiche Fasergerüst wie die übrige Schalenhaut, verfügt aber zusätzlich über ein von der Hüllsubstanz abgeleitetes *Mikronetz*, in das die Calcikristalle eingelagert sind.

Literatur

Abderhalden, E., u. E. Ebstein: Die Monoaminsäuren der Schalenhaut des Hühnereies. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **48**, 530—534 (1906).

Ammon, R., u. W. Dirscherl: Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander, 3. Aufl., Bd. 1, S. 260—262. Stuttgart: Georg Thieme 1959.

Andrews, M. W., and J. Sikorski: A contribution to the structure of keratin. In: Electron Microscopy. Proc. of the Stockholm Conf. Sept. 1956, S. 300—303 (1956). Hrsg. S. Sjöstrand u. J. Rhodin. Stockholm: Almqvist & Wiksell.

Astbury, W. T.: X-Ray-Interpretation of the molecular structure of feather keratin. Nature (Lond.) **130**, 309—310 (1932).

—, and Th. O. Bell: Nature of the intramolecular fold in alpha-keratin and alpha-myosin. Nature (Lond.) **147**, 696—699 (1941).

Benoit, J.: In: Traité de Zoologie, Anatomie, Systematique, Biologie (P. Grassé). Tome XV, Organes Uro-Genitaux, S. 358 (1950). Paris: Masson & Cie.; Saint Germain: Libraires de l'Académie de Medicine.

Birbeck, M. S., and E. H. Mercer: Electron microscopic, X-ray and birefringence studies on the proteins of the hair follicle. In: Electron microscopy. Proc. Stockholm Conf. Sept. 1956, S. 158—160 (1956). Hrsg. S. Sjöstrand u. J. Rhodin. Stockholm: Almqvist & Wiksell.

Blackburn, S.: The action of papain on wool keratin. Biochem. J. **47**, 443—451 (1950) — Nature (Lond.) **165**, 316—317 (1950).

Block, R. J., and H. B. Vickery: The basic amino acids of protein. A chemical relationsship between various keratins. J. biol. Chem. **93**, 1, 113—118 (1931).

Bourne, J. H.: The biochemistry and physiology of bone, S. 163. New York: Acad. Press Inc. Publ. 1956.

Braun-Falco, O.: Zur Frage des Mechanismus der Resorcin-Fuchsin- und Aldehyd-Fuchsin-Färbung elastischer Fasern. Arch. klin. exp. Derm. **203**, 256—265 (1956).

Brill, R.: Über die Beziehungen zwischen der Struktur der Polyamide und der des Seidenfibroins. Z. phys. Chem. **53**, 61—74 (1943).

Calvery, H. O.: Some analyses of egg-shell keratin. J. biol. Chem. **100**, 183—186 (1953).

Clevisch, A.: Beiträge zur Struktur und Physiologie der Vogeleischalen. Inaug.-Diss. v. 28. Nov. 1913, Bonn.

Dettmer, N.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen am elastischen Fasersystem des Ligamentum nuchae. Z. Zellforsch. **45**, 265—279 (1956).

—, u. W. Schwarz: Die qualitative elektronenmikroskopische Darstellung von Stoffen mit der Gruppe CHOH—CHOH. Ein Beitrag zur Elektronenfärbung. Z. wiss. Mikr. **61**, 423—429 (1954).

Flaschenträger, B., u. E. Lehnartz: Physiologische Chemie, Bd. I, 1951; Bd. II, Der Stoffwechsel, Teil 2/C, S. 464. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

Froboese, H.: Die mikroskopische Anatomie des Legedarmes mit Bemerkungen über die Bildung der Kalkschale beim Huhn. Z. mikr.-anat. Forsch. **14**, 447—482 (1928).

Gibian, H.: (1) Das Hyaluronsäure-Hyaluronidase-System. Ergebn. Enzymforsch. **13**, 1—84 (1954).

— (2) Mucopolysaccharide und Mukopolysaccharidasen. Einzeldarstellungen aus dem Gesamtgebiet der Biochemie, Neue Folge, Hrsg. O. Hoffmann-Ostenhof, Wien. Wien: Franz Deuticke 1959.

Giersberg, H.: Untersuchungen über Physiologie und Histologie des Eileiters der Reptilien und Vögel, nebst einem Beitrag zur Fasergenese. Z. wiss. Zool. **120**, 1, 1—97 (1923).

Harms, H.: Ein haltbares Aldehydfuchsin nach Gömori. In: Laboratoriumsblätter, Serumvertrieb Marburg H. 1, 7—13 (1954).

Hope, J., J. Sikorski and G. S. Whewell: The electron microscopy of pigmented keratinous materials. In: Electron microscopy. Proc. of the Stockholm Conf. Sept. 1956, S. 303—306. Hrsg. F. S. Sjöstrand u. J. Rhodin. Stockhom: Almqvist & Wiksell.

Huggins, M. L.: X-ray studies of the structure of components of biochemical interest. Ann. Rev. Biochem. **11**, 27—50 (1942).

— The structure of fibrous protein. Chem. Rev. **32**, 135 (1943).

Koch, W.: Eischalen-Bildung und Calciumstoffwechsel bei Vögeln. Berl. Med. **10**, 261 265 (1959).

Leuthardt, F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie, 14. Aufl., S. 87, 95, 96. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1959.

Lipp, W.: 1. Histochemische Methoden, a) Liefg., II, S. 6, Universalpuffer (Acetat-Veronal-Puffer) nach L. Michaelis. b) Liefg., VIII, S. 10, Fermente. München: R. Oldenbourg 1954/58.

Meyer, K. H.: Classification of fibrous protein. Nature (Lond.) **164**, No 4157, 34, 35 (1949) (Diskuss.-Beitr.).

Moran, T., and H. P. Hale: Physics of the Hen's Egg. I. Membranes in the Egg. J. exp. Biol. **13/14**, 35—40 (1935).

Patten, B. M.: The early embryology of the chick, 3. Aufl., S. 33—35. Philadelphia u. Toronto: The Blakiston Comp. 1948.

Rogers, G. E.: (a) Electron-microscope studies of hair and wool. Ann. N.Y. Acad. Sci. **83**, 378—399 (1959).

— (b) Electron microscopy of wool. J. ultrastruct. Res. **2**, 309—330 (1959).

Romanoff, A., and A. Romanoff: The avian egg. New York: John Wiley & Son Inc.; London: Clapman & Hall, limited 1949.

Schmidt, W. J.: (1) Über den Aufbau der Schale des Vogeleies, nebst Bemerkungen über kalkige Eierschalen anderer Tiere. Ber. oberhess. Ges. Natur- u. Heilk. Gießen, naturw. Abt. **28**, 82—108 (1958).

— (2) Schleim-, Kalk- und Farbstoffablagerungen auf der Kalkschale von Vogeleiern. Z. Zellforsch. **47**, 251—268 (1958).

— (3) Bau und Funktion der Lakunenschicht in den Eischalen von Emu und Casuar. Z. wiss. Mikr. **64**, 8, 489—503 (1960).

Schwarz, W., u. H.-J. Merker: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Innenversilberung der Sehnenfibrillen. Histochemie **1**, 225—240 (1959).

Siegmund, P., u. H.-J. Dulce: Zur Biochemie der Knochenauflösung, I, Einfluß des Carboanhydratase-Inhibitors-2-Acetamino-1,3,4-thiodiazol-sulfonamid-(5) (Diamox) auf den Calciumstoffwechsel von Legehennen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **320**, 149 (1960).

Simkiss, K., and C. Tyler: A histochemical study of the organic matrix of hen-egg-Shells. Quart. J. micr. Sci. **98**, 1, 19—28 (1957).

Simon, E.: The egg-Shell of the hen. Hemera zoa **63**, 334—339 (1956).

Wolken, J.: Structure of hen's egg membranes. Anat. Rec. **111**, 79—91 (1951).

Zahn, H.: (1) Über die Struktur des alpha-Keratin. Z. Naturforsch. **26**, 104—108 (1947).

— (2) Über die Einwirkung von Phenolkörpern auf Faserkeratine. Z. Naturforsch. **2b**, 286—291 (1947).

Prof. Dr. W. Masshoff, Pathologisches Institut der Freien Universität Berlin, Berlin-Charlottenburg, Spandauer Damm 130

Zeitschrift für Zellforschung 55, 833—844 (1961)

From the Institute for Cell Research, Karolinska Institutet, and the Department of Anatomy and Histology, Royal Veterinary College, Stockholm, Sweden

ON THE ULTRASTRUCTURE AND DEVELOPMENT OF THE PROTOPLASMIC DROPLET OF SPERMATOZOA*

By

Gunnar Bloom and Lennart Nicander

With 9 Figures in the Text

(Received August 15th, 1961)

In spite of the fact that the protoplasmic droplet of the mammalian spermatozoon was described already by Retzius (1909) the nature of this structure is still rather obscure. Weigl (1912), Gatenby and Woodger (1921), Bell (1929), Gatenby and Collery (1943), and Gresson and Zlotnik (1945, 1948) suggested that the droplet contained elements derived from the Golgi apparatus of the spermatid. Cavazos and Melampy (1954) have recently given some support to this theory. Redenz (1924) and many later authors have noted that the droplet changes position from the neck region to the posterior part of the middle piece of the spermatozoa during the passage of the latter through the epididymis. This movement of the droplet is, in fact, the only morphological change known to occur in the spermatozoa during this passage.

Little is known of the actual function of the droplet. Its role has most often been assumed to be nutritive. The well known fact that the spermatozoa do not attain full functional maturity until they have reached the cauda epididymidis indicates a correlation between the wandering protoplasmic droplet and the sperm-maturation process. Sperms in which the droplet has remained in the anterior position show a poor fertility and ejaculates, containing a high percentage of such spermatozoa are considered to indicate a spermatogenetic disturbancy (Lagerlöf 1934, and others).

Although the structure and formation of the mammalian spermatozoon has been the object of many electron microscopical studies very little interest has been devoted to the protoplasmic droplet and a report on its ultrastructure is lacking in the literature. In order to shed some light on the question of the nature of this structure it was considered of interest to investigate, with the aid of the electron microscope, the fine structure of the protoplasmic droplet of spermatozoa from various animal species and from different levels of the epididymis as well as details of its development during spermateliosis.

Material and Methods

Epididymal spermatozoa from bull, ram, rabbit, and rat were studied. Those from bull and ram were taken from regions 3 and 6 of the ductus epididymidis (Nicander 1958), i. e. just before the movement of the droplet down the middle piece, and at the most posterior part of the epididymis, respectively. An incision was made in the wall of the duct and drops of the luminar contents were placed on small paper strips, which were then floated onto the

* Financial support for this study was received from the Swedish Medical Research Council and the Wallenberg Foundation.

surface of a buffered osmiumtetroxide solution (PALADE 1952) in a small, closed vessel. Fixation time was generally one hour. The thin films of fixed epididymal contents were removed and broken into smaller pieces during the subsequent washing and embedding procedure. Epididymal spermatozoa from rabbit and rat were studied in situ in small pieces of the epididymis fixed in Palade's fluid with the addition of sucrose (CAULFIELD 1959) for 1—2 hours. Small pieces of testicular tissue from bull, ram and rabbit were also fixed in Palade's fluid. Embedding was performed in butyl methacrylate with the addition of 5 per cent methyl methacrylate, except for the epididymal material from rabbit and rat, which was embedded in epoxy resin (Epon) according to LUFT (1961). Specimens were sectioned on a Porter Blum-microtome or a LKB Ultrotome and the sections were examined in a Siemens Elmiskop I at 80 kV, or an RCA type EMU 2b electron microscope. Electron optical magnifications varied from 2300 to 19000 diameters.

Observations

a) The droplet in epididymal spermatozoa

No important differences regarding droplet fine structure were noted in sperms from bull or ram, and the following description includes spermatozoa from both species.

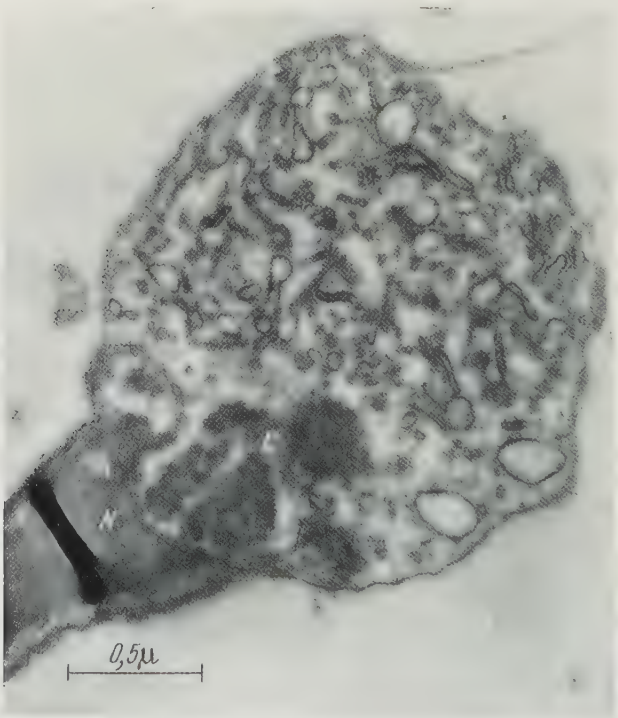

Fig. 1. Oblique section through protoplasmic droplet and base of sperm head (*H*). *C* centriolar structures. Caput epididymidis, bull. 35000 ×

The protoplasmic droplet of spermatozoa from region 3 of the duct surrounds the neck region of the spermatozoon, from the base of the head to the anterior part of the mitochondrial sheath. The droplet is limited by the cell membrane covering the whole spermatozoon. Its interior is crowded with small vesicles and fine, often curved tubules or lamellae, apparently oriented at random. Some

larger vesicles are also seen (Figs. 1—2). The contents of the droplet border on the mitochondrial sheath and the centriolar structures of the neck region. Droplets which have just moved down the middle piece are laterally displaced but show the same ultrastructure. No other change in the structure of the middle piece is seen in connection with the movement of the droplet.

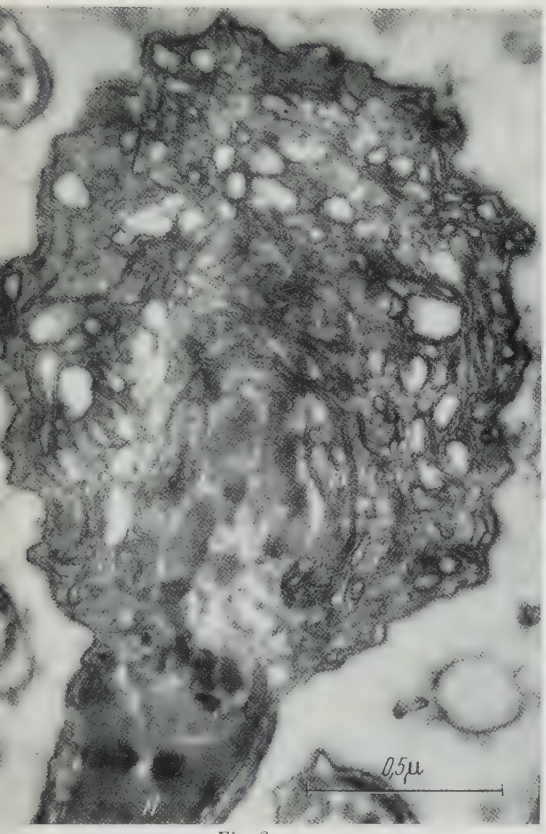

Fig. 2

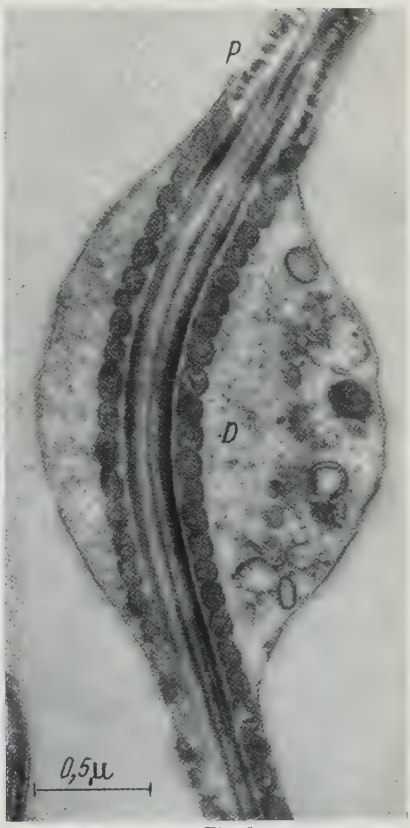

Fig. 3

Fig. 2. Oblique section of sperm head (*H*) and anterior middle piece with mitochondrial sheath (*m*), surrounded by the protoplasmic droplet. Caput epididymidis, ram. 50000 ×

Fig. 3. Longitudinal section of posterior part of the middle piece with protoplasmic droplet (*D*), and the most anterior part of the principle piece (*P*). Note the crowding of membraneous structures at the periphery of the droplet. Cauda epididymidis, ram. 30000 ×

The droplet of spermatozoa from region 6 surrounds the posterior part of the middle piece. The internal structure has changed considerably in most droplets, especially in those taken from the most posterior part of the duct. The picture is dominated by flattened lamellae, which are sometimes bent to U-shaped or nearly circular profiles, irrespective of the plane of the section. Often two or more flattened profiles of this kind are concentrically arranged. As a rule, such membraneous complexes are absent from the immediate vicinity of the middle piece proper, which is now excentrically located near the periphery of the droplet (Figs. 3—4). This arrangement may be a prelude to the casting off of the droplet.

The droplet of spermatozoa in the anterior epididymis of the rabbit shows similar ultrastructural features, but the ground cytoplasm is denser and strongly curved tubules or lamellae are already present.

Fig. 4. Cross section of posterior part of middle piece with droplet. Cauda epididymidis, ram. The axial filament (*a*), surrounded by the mitochondrial sheath (*m*), has an eccentric position within the droplet. The curved double membranes are often parallel (arrows) and crowded near the periphery of the droplet. 70000 ×

Epididymal spermatozoa of the rat have larger droplets than the other species studied (Fig. 5). The tubules and vesicles are generally restricted to a peripheral region, even in droplets still surrounding the neck piece.

Spermatozoa from the cauda epididymidis of rat and rabbit have not been studied.

b) Development of the droplet

The development of the protoplasmic droplet was mainly studied in sections from the testes of bull and rabbit. No important differences between the species were noticed.

The cytoplasm of early spermatids shows the well-known ultrastructure (Palade 1955; Burgos and Fawcett 1955) with typical mitochondria, a Golgi apparatus in juxtaposition to the developing acrosome system, a mainly vesicular endoplasmic reticulum, small clusters of dense particles, and a chromatoid body. Large bodies or vesicles containing ring-shaped profiles are also present. The

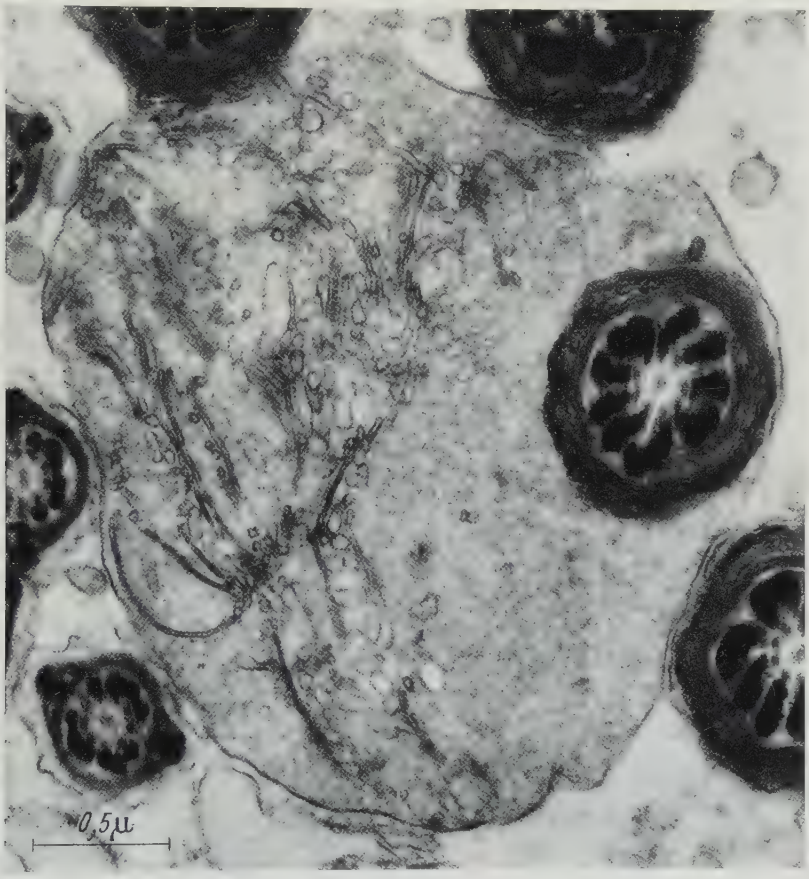

Fig. 5. Cross section of posterior middle piece with laterally displaced protoplasmic droplet. Caput epididymidis, rat. 35000 ×

development of the tail primordium is similar to that described for rats by Sotelo and Trujillo-Cenóz (1958).

Late spermatids also show a transitory caudal sheath composed of many fine tubules. This structure apparently disappears completely before the mitochondrial sheath is formed. The Golgi apparatus is displaced to the postnuclear cytoplasm. It has a looser and more vesicular structure than before. It also seems to diminish in volume by the transfer of vesicles to the surrounding cytoplasm, as described by Clermont (1956). These vesicles mingle with similar elements of the endoplasmic reticulum and thus can no longer be identified as Golgi elements. No actual division of the Golgi apparatus was observed. Some membraneous formations, possibly formed by swelling and beginning disintegration

of mitochondria, are often seen near the developing middle piece at this stage (Fig. 6). Most of the spermatid cytoplasm is withdrawn from the surroundings

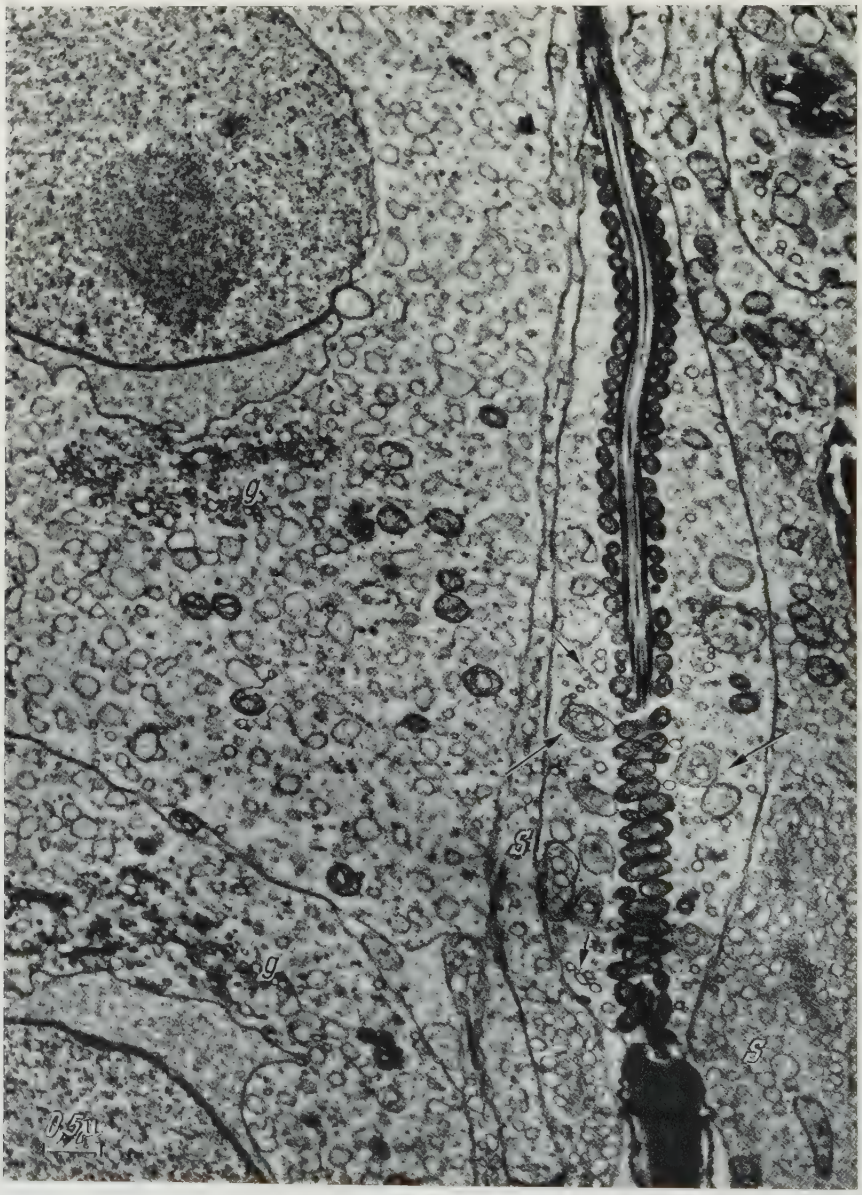

Fig. 6. Section of bull testis with developing middle piece of a late spermatid, and parts of two early spermatids (to the left), embedded in Sertoli cell cytoplasm (*S*). The cytoplasm surrounding the developing mitochondrial sheath contains swelled mitochondria (long arrows), and small vesicles (short arrows), similar to those in the Golgi apparatus (*g*) of the young spermatids. 12000 ×

of the developing mitochondrial sheath, and the Golgi apparatus remains in this large mass of residual cytoplasm, where it becomes still looser and less well demarcated. Small, scattered vesicles, and short, bent tubules appear around

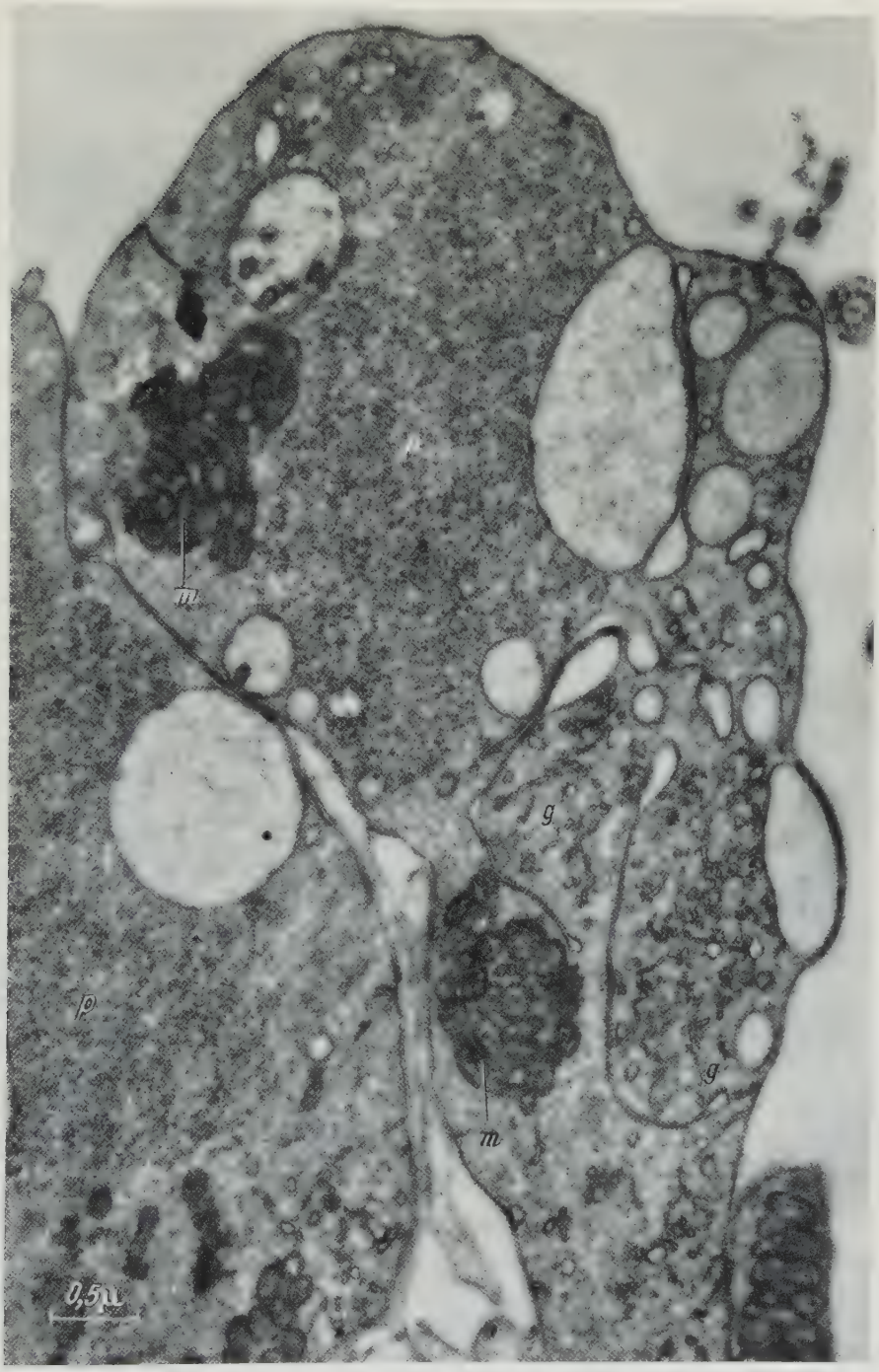

Fig. 7. Residual cytoplasm of two rabbit spermatids with groups of dense mitochondria (*m*), a large area filled with small, dense particles (*p*), and vacuoles. The disintegrating Golgi apparatus (*g*) contains many small tubules. Similar tubules occur outside the Golgi area. Part of an obliquely cut middle piece is also seen (lower right corner). 22000 ×

the early mitochondrial sheath, though the tubular elements are more unusual in bulls. These vesicles and tubules are not especially numerous in the neck region at this stage. No other cytoplasmic structures are seen in the vicinity of the

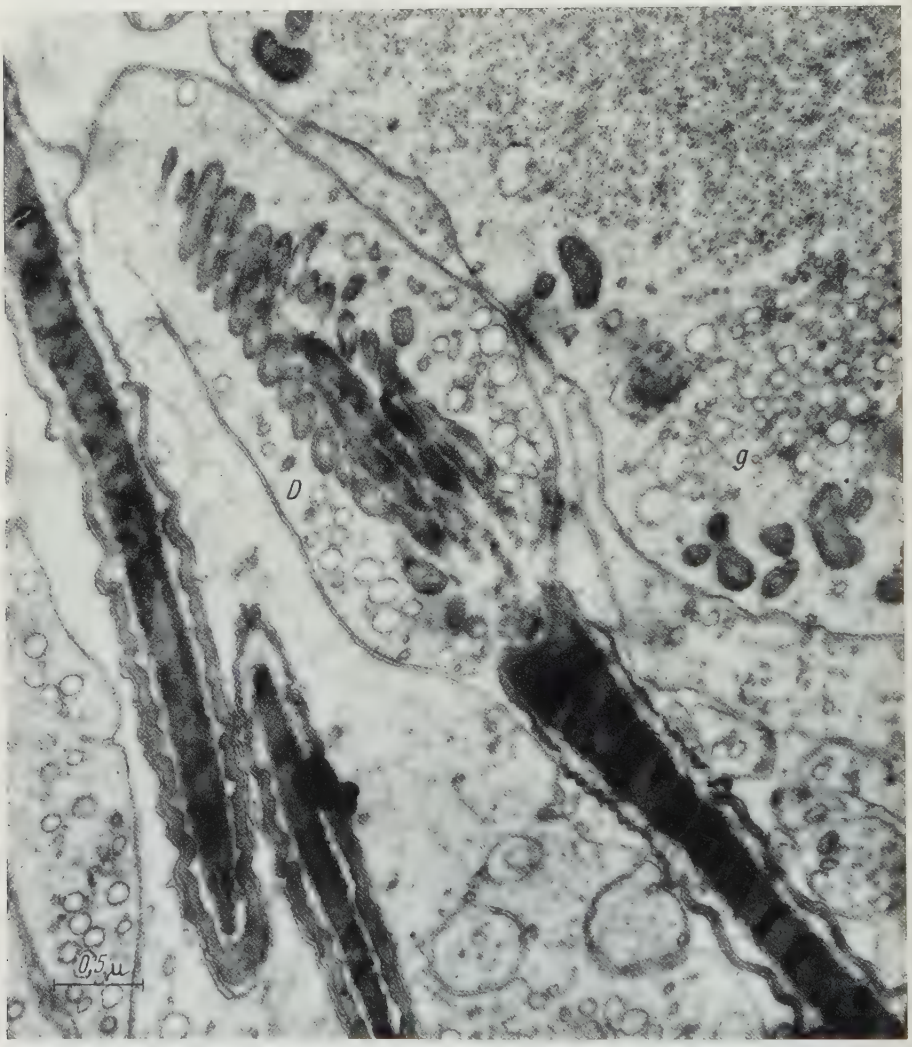

Fig. 8. Bull testis. A developing protoplasmic droplet (*D*) with many vesicles, and part of the residual cytoplasm of an adjacent spermatid with a mainly vesicular Golgi apparatus (*g*). 25 000 ×

neck or anterior middle piece. At a still later stage of spermateliosis, when the spermatozoa have already begun to "back out" of the Sertoli cells, small vesicular and, especially in the rabbit, tubular elements rapidly cluster in the cytoplasmic swelling of the neck region (Fig. 8). Most of the middle piece is wrapped in a very thin layer of cytoplasm only, where very few membraneous elements are seen. The ground cytoplasm of the droplet thus demarcated grows denser than before, and the proportion of tubular elements increases rapidly, especially in the

bull (Fig. 9). At this stage, the fine structure of the droplet is similar to that seen in spermatozoa from the anterior epididymis.

The residual cytoplasm of the spermatids contains groups of mitochondria with the same modified ultrastructure as those of the mature middle piece. A few lipid droplets, one large mass of small, dense granules, and some vacuoles are also present. The former Golgi apparatus of rabbits shows some long, slightly

Fig. 9. Bull testis. Oblique section of protoplasmic droplet and middle piece at a somewhat more advanced stage than that seen in Fig. 8. The ground cytoplasm of the droplet is dense, and many tubular structures can be observed. 40000 ×

curved double membranes, many small tubular elements, and some vesicles (Fig. 7). A clear distinction between Golgi structures and endoplasmic reticulum is not possible, as small groups of tubules and vesicles similar to those in the Golgi region are scattered among the other structures of the residual cytoplasm. The residual Golgi apparatus of the bull shows a marked predominance of vesicular elements (Fig. 8).

Discussion

Interest has off and on been focussed on the protoplasmic droplet of epididymal spermatozoa as its movement down the middle piece is actually the only structural change known to occur in spermatozoa during the physiological ripening that takes place in the epididymis. Rao and Hart (1948) stated that the middle piece of

bull spermatozoa becomes straighter and thicker as the droplet moves down. This observation could not be verified in the present investigation. No structural modification of the middle piece in connection with the movement of the droplet was observed in any species here studied. Droplets with concentric double membranes were generally restricted to the most posterior parts of the cauda epididymidis, and this alteration of droplet fine structure may thus be a sign of beginning age changes or degeneration, though further studies are required to establish this theory. RETZIUS (1909) described a dark, oval body within the protoplasmic droplet of bulls. REDENZ (1924) made the same observation on droplets still in the anterior position. The lateral displacement characteristic of droplets in the posterior position and the distribution of their internal membranes seems to be in agreement with observations by RETZIUS, but no asymmetrical internal structure in anterior droplets could be found by the present authors, not even by light microscopy of living or stained bull spermatozoa. Among the four species studied, only rats display an uneven distribution of internal structures in anterior droplets. The remarkably large size of rat droplets has its counterpart in the very long middle piece of rat spermatozoa.

Many light microscopical studies have established the presence of argentophilic and osmiophilic elements in the protoplasmic droplet of testicular and epididymal spermatozoa from various species (WEIGL 1912, GATENBY and WOODGER 1921, BELL 1929, GATENBY and COLLERY 1943, GRESSON and ZLOTNIK 1945, 1948). This observation was universally interpreted as an indication of a relation between the droplet and the Golgi apparatus of the spermatid. GATENBY and WOODGER (1921) stated that a small part of the Golgi apparatus of late spermatids in guinea pigs is budded off and transferred to the developing droplet. This observation was not confirmed by BELL (1929) or GRESSON and ZLOTNIK (1945, 1948), who considered the argentophilic elements of the droplet to be derived from small Golgi granules, detached from the apparatus during its passage from the acrosomal region of the spermatid to the postnuclear cytoplasm. CAVAZOS and MELAMPY (1954) found that periodic acid-reactive carbohydrates, possibly of Golgi origin, are included in the droplet. These above-mentioned observations are not wholly convincing, as argentophilic and osmiophilic, as well as periodic acid-reactive substances are not necessarily of Golgi origin. Unfortunately the ultrastructural features of the droplet in epididymal spermatozoa do not either permit any definite conclusions regarding the true nature of the internal structures. Both the Golgi apparatus and the endoplasmic reticulum of spermatids may be the source of such internal structures.

No budding from the Golgi apparatus as described by GATENBY and WOODGER (1921) was observed. Some small vesicles and bodies, possibly corresponding to the argentophilic and osmiophilic granules of GRESSON and ZLOTNIK (1945, 1948) were noticed near the posterior pole of the nucleus in early manchette stages, but they were not present when the development of the mitochondrial sheath and the protoplasmic droplet started. Instead, some rather large, irregular membraneous structures, probably disintegrating mitochondria, were often seen around the developing mitochondrial sheath. They may constitute part of the reducing structures observed in this region in earlier light microscopical studies. The only structures seen to assemble around the neck piece and anterior middle

piece of late spermatids were very small vesicular and tubular (rabbit) elements, which were not present in this shape at earlier stages. They probably represent both vesicles of the endoplasmic reticulum and elements pinched off from the periphery of the Golgi apparatus, which becomes increasingly loose and poor in double membranes during the latest stages of spermateliosis, as was also noted by Clermont (1956) in rat spermatids. The residual Golgi apparatus of bulls shows a mainly vesicular structure, whereas that in rabbits still shows many elongated profiles. In accordance with this observation the early droplet in bulls contains small vesicular elements only, and that in rabbits a high proportion of tubular elements. However, the vesicles of the endoplasmic reticulum mingle with the disintegrating Golgi apparatus in the residual cytoplasm until no clear distinction can be made, and these vesicles are known to be able to change their shape into elongated profiles (Palade 1955). Therefore, the possibility that the endoplasmic reticulum contributes to the membraneous elements of the droplet cannot be ruled out, though the argentophilic and osmiophilic properties of the droplet are strong evidence against a high proportion of endoplasmic reticulum.

Another structure to be considered as a possible source of tubular elements is the manchette characterized by fine tubules (Burgos and Fawcett 1955), which seem to disappear just before the development of the mitochondrial sheath. However, preliminary studies on permanganate fixed spermatids of rabbits have shown that the manchette tubules are not visible after this fixation, whereas all membraneous components of the droplet are well preserved.

No electron microscopical studies on the protoplasmic droplet have been published, but Ånberg (1957) mentions that "immature" spermatozoa in the human epididymis show a cytoplasmic surplus with some vacuoles and "several arch-like double membranes". It seems probable that this description refers to a counterpart to the protoplasmic droplet of animal spermatozoa.

Summary

The fine structure of the protoplasmic droplet of epididymal spermatozoa of bull, ram, rabbit, and rat is described, as well as its development in the testis of bull and rabbit.

The droplet is bounded by the cell membrane, and its substance borders on the neck and middle piece. The internal structure is comprised of fine, curved tubules, many small and some larger vesicles, and a ground cytoplasm, which is rather dense in the rabbit and the rat. Rat spermatozoa show a conspicuously large droplet with the membraneous structures asymmetrically distributed. Droplets of spermatozoa from the most posterior part of the epididymis of bull and ram generally show an altered structure with many curved, often concentric lamellae.

No change in the ultrastructure of the middle piece was observed in connection with the movement of the droplet.

The membraneous structures of the droplet assemble in the neck region o. late spermatids as small vesicles in bulls, and as tubules and vesicles in rabbits These structures probably represent both elements from the disintegrating Golgi apparatus and vesicles of the endoplasmic reticulum.

References

Ånberg, Å.: The ultrastructure of the human spermatozoon. Acta obstetr. gynec. scand. **36**, Suppl 2 (1957).

Bell, A. W.: The origin of neutral fats from the Golgi apparatus of the spermatid of the dog. J. Morph. **48**, 611—625 (1929).

Burgos, M. H., and D. W. Fawcett: Studies on the fine structure of the mammalian testis. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 287—300 (1955).

Caulfield, J. B.: Effects of varying the vehicle for OsO_4 in tissue fixation. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 827—830 (1957).

Cavazos, L. F., and R. M. Melampy: A comparative study of periodic acid-reactive carbohydrates in vertebrate testes. Amer. J. Anat. **95**, 467—495 (1954).

Clermont, Y.: The Golgi zone of the rat spermatid and its role in the formation of cytoplasmic vesicles. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 119—122 (1956).

Gatenby, J. B., and L. Collery: The function of the mammalian epididymis. Proc. roy. Irish. Acad. B **49**, 103—108 (1943).

—, and J. H. Woodger: The cytoplasmic inclusions of the germ-cells. IX. On the origin of the Golgi apparatus on the middle-piece of the ripe sperm of cavia and the development of the acrosome. Quart. J. micr. Sci. **65**, 265—288 (1921).

Gresson, R. A. R., and I. Zlotnik: A comparative study of the cytoplasmic components of the male germ cells of certain mammals. Proc. roy. Soc. Edinb. B **62**, 139—161 (1945).

— — A study of the cytoplasmic components during the gametogenesis of Bos taurus. Quart. J. micr. Sci. **89**, 219—228 (1948).

Lagerlöf, N.: Morphologische Untersuchungen über Veränderungen im Spermabild und in den Hoden bei Bullen mit verminderter oder aufgehobener Fertilität. Acta path. microbiol. scand. Suppl 19, 1—254 (1934).

Luft, J. H.: Improvements in Epoxy resin embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol. **9**, 409—417 (1961).

Nicander, L.: Studies on the regional histology and cytochemistry of the ductus epididymidis in stallions, rams and bulls. Acta morph. neerl. scand. **1**, 337—362 (1958).

Palade, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. **95**, 285—297 (1952).

— Studies on the endoplasmic reticulum. II. Simple dispositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 567—582 (1955).

Rao, C. K., and G. H. Hart: Morphology of bovine spermatozoa. Amer. J. vet. Res. **9**, 117—124 (1948).

Redenz, E.: Versuch einer biologischen Morphologie des Nebenhodens. Arch. mikr. Anat. **103**, 593—628 (1924).

Retzius, G.: Die Spermien der Huftiere. Biol. Untersuch., N. F. H. **14**, 163—178 (1909).

Sotelo, J. R., and O. Trujillo-Cenóz: Electron microscope study of the kinetic apparatus in animal sperm cells. Z. Zellforsch. **48**, 565—601 (1958).

Weigl, R.: Vergleichend-cytologische Untersuchungen über den Golgi-Kopschschen Apparat und dessen Verhältnis zu anderen Strukturen in den somatischen Zellen und Geschlechtszellen verschiedener Tiere. Bull. int. Acad. Soc. Cracovie, Sér. B, 417—448 (1912).

Dr. Gunnar Bloom,
Institute for Cell Research, Karolinska Institutet, Stockholm (Sweden)

Prof. Dr. L. Nicander,
Veterinärhögskolan, Stockholm 51 (Sweden)

Zeitschrift für Zellforschung 55, 845—848 (1961)

Aus dem Anatomischen Institut in Budapest/Ungarn (Vorstand: Prof. Dr. F. Kiss)

ZWEI KARYOMETRISCH UNTERSCHEIDBARE ZELLTYPEN IM SUBCOMMISSURALORGAN DER RATTE

Von

M. Palkovits

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. August 1961)

Im Laufe der Untersuchung des Subcommissuralorgans (SCO) fiel auf, daß die Zellkerne des SCO bei der Gömörischen Chrom-Hämatoxylin-Phloxinfärbung eine abweichende Färbung aufweisen. Wenn man die Färbemethodik geringfügig ändert, tritt diese Abweichung noch ausgeprägter in Erscheinung. Gleichzeitig fiel auf, daß die statistischen Kurven des SCO nicht regelmäßig sind und vom sog. mathematischen Gauss-Kurventyp abweichen. Diese Feststellung unterstützte die Annahme, daß in den SCO-Zellen Zellkerne von zwei oder mehr Typen vorzufinden sind. Die Berechtigung dieser Vermutung bewiesen die Untersuchungen von Adam (1958), der mit verschiedenen Färbungen verschiedenartig färbbare Zellkerne und Sekrete bei Cyclostomen und Amphibien fand. Zweck der gegenwärtigen Untersuchungen war, eine Antwort darauf zu erhalten, ob tatsächlich zwei unterschiedliche Zelltypen im SCO vorzufinden sind.

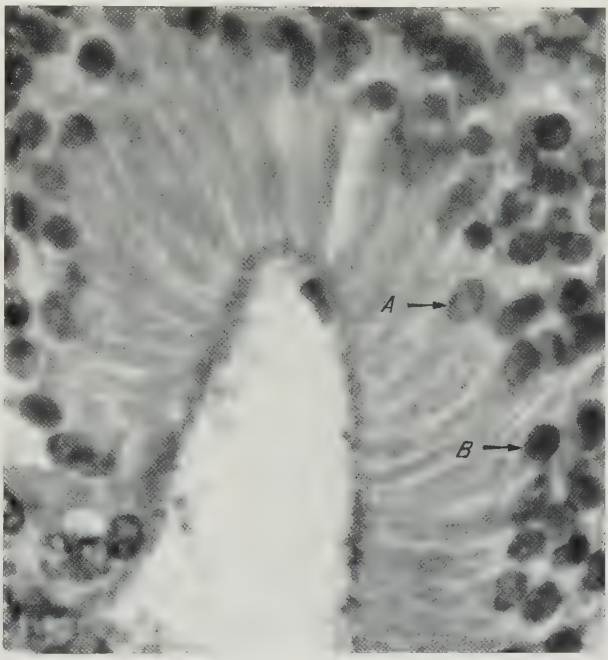

Abb. 1. Das Subcommissuralorgan der Ratte. Vergr. 600fach. Chromalaunhämatoxylin-Phloxinfärbung nach Gömöri

Material und Methoden

Untersucht wurden 18 Albinoratten (Gewicht 120—180 g) verschiedenen Geschlechts. Nach Dekapitierung wurde das Gehirn in Bouinscher Fixiermischung fixiert, in Paraffin eingebettet. Serienschnitte (8 μ) wurden mit Gömörischer Chrom-Hämatoxylin-Phloxinfärbung gefärbt. Die Färbung wurde, wie folgt modifiziert: Gömörische Lösung: 8 min, Salzsäure-Alkohol: 1 min, Phloxin: $^1/_2$ min, Phosphorwolframsäure: 2 min. In den übrigen Lösungen wurden die Schnitte nach der Vorschrift Gömöris behandelt. Bei der geschilderten

Modifikation ist die Färbung des Sekrets und die Kontrastfärbung des Zytoplasmas schwächer, doch lassen sich die beiden Zellkerntypen besser absondern (Abb. 1). Mit der von uns vorgenommenen Modifikation der Jakobjschen Zellkernvariationsmethode (Palkovits, 1961) wurde an den Zellkernen des SCO und an den Ependymzellen das Volumen der Zellkerne bestimmt, in fixe logarithmische Klassen eingeordnet (Inke, Palkovits, Gyárfás, 1958) und auf einer statistischen Kurve dargestellt. Das Volumen von 5350 Zellkernen wurde bestimmt. Ferner wurde die prozentuale Verteilung der beiden Zellkerntypen untersucht.

Befunde

Im SCO von Ratten konnten zweierlei Zellen, deren Zellkerne zu zwei verschiedenen Typen gehören, nachgewiesen werden. Die eine Gruppe der Zellkerne läßt sich blau färben und hat eine elliptische Form (Durchmesserproportion

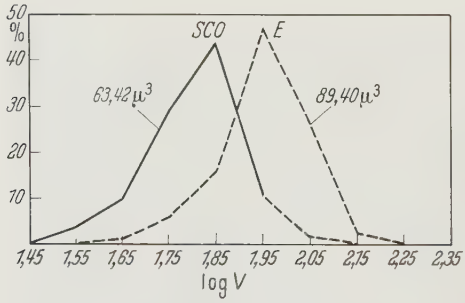

Abb. 2

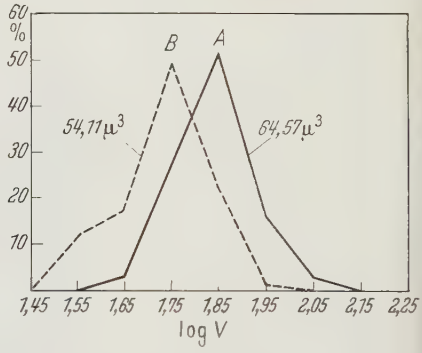

Abb. 3

Abb. 2. Statistische Kurven der Zellkernvariationen. *SCO* die Zellkerne des Subcommissuralorgans, *E* Zellkerne des Ependyms vom dritten Ventrikel

Abb. 3. Statistische Kurven der Zellkernvariationen. Die Kernvolumina der zweierlei Zellen des Subcommissuralorgans

1:1,37), die andere Gruppe läßt sich mit Phloxin lebhaft-rot färben, sie ist annähernd kugelförmig (Durchmesserproportion 1:1,12). Die Ependymzellen des 3. Ventrikels bzw. des Aquaeductus Sylvii weisen einen solchen Unterschied nicht auf. Karyometrische Messungen zeigen eine wesentliche Abweichung der Kerne des SCO von denen der Ependymzellen (Abb. 2). Der Durchschnitt des Volumens der SCO-Kerne beträgt 63,42 μ^3 gegenüber dem Volumenwert der Ependym-Zellkerne, der 89,40 μ^3 ausmacht.

Tabelle. *Das Verhältnis der zwei Zelltypen des Subcommissuralorgans*

	A	B	B/A
1	121	24	1:5,05
2	100	18	1:5,11
3	169	35	1:4,89
4	135	38	1:4,82
5	97	19	1:5,11
6	152	28	1:5,43
7	188	41	1:4,69
8	103	20	1:5,15

Es ist ersichtlich, daß die statistische Kurve des Volumens der SCO-Zellkerne eine Abweichung von der sog. mathematischen Gauss-Kurve aufweist, weshalb an beiden Kerntypen gesonderte Volumenmessungen vorgenommen wurden. Wir fanden, daß die beiden Typen von einander signifikant abweichen (Abb. 3) und gesondert regelmäßige Kurven ergeben. Der Mittelwert des Volumens der blau färbbaren Kerne (A-Typ) beträgt 64,57 μ^3, derjenige der rot färbbaren Kerne (B-Typ) 54,11 μ^3.

Wir untersuchten die Verteilung der A- und B-Zellkerne und veranschaulichten die Ergebnisse in einer Tabelle. Wir fanden, daß die A-Zellen durchschnitt-

lich fünfmal so oft wie die B-Zellen vorzufinden sind und daß dieses Verhältnis bei den einzelnen Tieren nur geringe Schwankungen aufweist.

Diskussion

Nach den Untersuchungen von Stutinsky (1950) befaßten sich zahlreiche Autoren mit der feineren Struktur des SCO (Olsson 1958, Afzelius und Olsson 1959, Murakami 1959), und mit den histochemischen Eigenschaften des Sekrets (Bargmann und Schiebler 1952, Wislocki und Leduc 1952, Barry 1954, Adam 1958). In den Arbeiten von Adam sind Hinweise zu finden, wonach sich die Zellen des SCO auf Grund ihrer Färbbarkeit und der Färbung des Sekrets in zwei Gruppen verteilen lassen. Adam sonderte bei Amphibien und Cyclostomen mit der Klüver-Barreraschen Luxor Fast Blue MBS-Chresylviolettfärbung dunkle und helle Zellkerne ab. Nach Adam ist dieser Unterschied auch bei den Ependymzellen aufzufinden.

Meine eigenen Untersuchungen zeigen, daß mit der geringgradig modifizierten Gömörischen Färbung ähnliche Färbungsunterschiede nachweisbar sind. Man findet blau färbbare größere und rot färbbare kleinere Kerne (Abb. 1). Im Cytoplasma ist weder nach den eigenen Untersuchungen noch nach denjenigen von Adam irgendeine Abweichung nachzuweisen. Die karyometrischen Messungen ergeben entsprechend den Färbeunterschieden die Anwesenheit von zwei Kerntypen, d. h. im Volumen der unterschiedlich färbbaren Zellkerne ist eine wesentliche Abweichung nachzuweisen. Wir konnten in den Ependymzellkernen keinen Färbungsunterschied feststellen und die statistische Kurve des Volumens der Kerne, die signifikant von der statistischen Kurve der SCO-Zellkerne abweicht, weist eine mathematische Regelmäßigkeit im Gegensatz zur statistischen Kurve des Zellkernvolumens von SCO auf, welche sich in jedem Fall aus zwei verschiedenen Volumenwerten zweier unterschiedlicher Kernarten zusammensetzt (Abb. 2). Wird das Volumen beider Zellkernarten gesondert gemessen, so kommt man zu dem Ergebnis, daß man zwei signifikant verschiedene Werte erhält. Diese statistischen Kurven zeigen eine mathematische Regelmäßigkeit als Beweis dafür, daß das SCO nicht aus solchen Zellen zusammengesetzt ist, die verschiedenen Umwandlungsformen angehören, sondern aus solchen, deren Kerne zu zwei verschiedenen Typen gehören. Diese Annahme wird auch dadurch bestätigt, daß die Verteilung der Zellkerne vom A- und B-Typ eine Konstante ist; ihr Verhältnis zueinander beträgt 5:1.

Natürlich geben die Färbungs-, Ordnungsgrößen- und Verteilungsunterschiede keinen Aufschluß darüber, welche funktionellen Unterschiede hinter den morphologischen Unterschieden bestehen. Sie sind zur Feststellung einer feineren morphologischen, histochemischen Differenzierung nicht geeignet, sondern zeigen lediglich an, daß unter den sekretausscheidenden Zellen des SCO zwei Typen zu finden sind. Dies ist auch aus dem Grunde bedeutungsvoll, weil es in der letzten Zeit gelang, zweierlei endokrine Funktionen des SCO — eine antidiuretische und eine mineralo-corticotrope — nachzuweisen (Palkovits und Földvári 1960, Palkovits und Földvári, im Druck).

Zusammenfassung

Man kann im Subcommissuralorgan der Ratte mit der Gömörischen Chrom-Hämatoxylin-Phloxinfärbung zwei verschiedene Zellkerntypen nachweisen. Mit

der karyometrischen Methode läßt sich ein signifikanter Unterschied in der Größe der Zellkerne konstant feststellen; es besteht das Verhältnis 5:1. Der Autor nimmt auf Grund der Färbungs-, Ordnungsgrößen- und Verteilungsunterschiede an, daß das SCO aus zwei verschiedenen Zelltypen besteht.

Literatur

Adam, H.: Zur Morphologie der ventrikelnahen Hirnwandgebiete bei Cyclostomen und Amphibien. Verh. Dtsch. Zool. Ges. in Frankfurt a. Main, S. 231—264. Leipzig: Akademische Verlagsgesellschaft 1958.

Afzelius, B. A., and R. Olsson: The fine structure of the subcommissural cells and of Reissner's fibre in Myxine. Z. Zellforsch. **46**, 672—685 (1957).

Bargmann, W., u. Th. H. Schiebler: Histologische und cytochemische Untersuchungen am Subcommissuralorgan von Säugern. Z. Zellforsch. **37**, 582—596 (1952).

Barry, J.: Contribution a l'étude de la neurosécrétion. Biol. Med. **43**, 327—341 (1954).

Inke, G., M. Palkovits u. I. Gyárfás: Über methodische Fragen der Kernvariationstatistik. VI. Bewertung der Gruppierungsmethoden. Acta morph. Acad. Sci. hung. **8**, 363—371 (1958).

Murakami, M.: Über die Feinstruktur des Subcommissuralorgans von Gecko japonicus. Arch. histol. jap. **17**, 411—427 (1959).

Olsson, R.: Studies on the subcommissural organ. Acta zool. (Stockh.) **39**, 71—102 (1958).

Palkovits, M.: Angaben und Hilfsmittel zur Auswertung von Kernvariationsuntersuchungen. Z. mikr.-anat. Forsch. **67**, 343—355 (1961).

—, u. I. P. Földvári: Über die antidiuretische Wirkung des Organon subcommissurale. Acta biol. Acad. Sci. hung. **11**, 91—102 (1960).

— — Effect of the subcommissural organ and of the pineal body on the fonction of the adrenal cortex. Im Druck.

Stutinsky, F.: Colloide, corps de Herring et substance Gomori positive de la neurohypophyse. C.R. Soc. Biol. (Paris) **144**, 1357—1360 (1950).

Wislocki, G. B., and E. H. Leduc: The cytology and histochemistry of subcommissural organ and Reissner's fiber in rodents. J. comp. Neurol. **97**, 515—544 (1952).

Dr. M. Palkovits,
Anatomisches Institut, Tüzoltó u 58, Budapest IX (Ungarn)

Zeitschrift für Zellforschung 55, 849—912 (1961)

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel (Direktor: Prof. Dr. med. W. Bargmann) und dem Zoologischen Institut der Universität Mainz (Direktor: Prof. Dr. H. Mislin)

ÜBER DEN FEINBAU DER SCHWIMMBLASE VON *ANGUILLA VULGARIS* L.

LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN*

Von

E. Dorn

Mit 44 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Juli 1961)

Inhalt

Seite

A. Einleitung 849
B. Material und Methodik 854
C. Befunde 854
I. Lichtmikroskopische Befunde 854
1. Schwimmblase S. 854. — 2. Ductus pneumaticus S. 859. — 3. Roter Körper S. 863.
II. Elektronenmikroskopische Befunde 865
1. Schwimmblasenepithel S. 865. — a) „Helles Epithel" S. 866. — b) „Dunkles Epithel" S. 874. — c) Basalmembran S. 879. — d) Die Kapillaren des Schwimmblasenepithels S. 881.
2. Ductus pneumaticus S. 883. — a) Epithel S. 883. — b) Die Kapillaren S. 885.
3. Roter Körper S. 887. — a) Arterielle Kapillaren S. 887. — b) Venöse Kapillaren S. 888. — c) Kapillardeckzellen S. 891. — d) Basalmembran S. 891.
D. Diskussion 893
Zusammenfassung 900
Literatur 901

A. Einleitung

Die Schwimmblase der Knochenfische ist ein gasgefülltes Hohlorgan, das retroperitoneal unter der Wirbelsäule liegt; sie entsteht als dorsale Ausstülpung des Vorderdarmes. Bei den Physostomen bleibt die Verbindung der Schwimmblase zum Darmtractus zeitlebens erhalten, bei den Physoclisten verschwindet sie mehr oder weniger frühzeitig, so daß die Schwimmblase völlig geschlossen ist.

So verschiedenartig die Funktionen der Schwimmblase sind — sie kann als hydrostatisches Organ, als respiratorisches Organ, als Sinnesorgan und als lauterzeugendes Organ dienen —, ihr Bauprinzip ist das eines gasgefüllten Hohlgebildes. Die Gasfüllung besteht in der Hauptsache aus einem Gemisch von O_2, CO_2 und N_2, das in seiner prozentualen Zusammensetzung je nach der Art und dem Biotop des Fisches sehr verschieden ist. Dieses Gemisch bedarf einer dauernden Regulation, einmal zum Ersatz der fortwährend in kleinen Mengen wegdiffundierenden Gase, deren Partialdrucke im Schwimmblasenhohlraum erheblich höher sind als in den umgebenden Geweben, und zum anderen, um rasche und

* Durchgeführt mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.
Herrn Professor Dr. W. Bargmann danke ich für einen Arbeitsplatz und für Förderung dieser Arbeit.

größere Veränderungen des Füllungszustandes zu ermöglichen. Bei den Physostomen geschieht dies im wesentlichen durch Luftschlucken an der Wasseroberfläche und durch Luftspucken. Erheblich komplizierter scheinen diese Vorgänge in der Schwimmblase der Physoclisten abzulaufen. Bei vielen Jungfischen (z. B. Syngnathiden, Stichlingen, *Lebistes*) besteht zwar in den ersten Lebenstagen eine offene Verbindung der Schwimmblase mit dem Oesophagus, und zur ersten Entfaltung und weiteren Gasfüllung der Schwimmblase ist das Schlucken von atmosphärischer Luft unerläßlich. Indessen wird der Luftgang bald rückgebildet, und die Gasfüllung muß dann auf andere Weise reguliert werden.

Als Substrat für die Funktionen der Schwimmblase sieht man folgende Differenzierungen an:

1. Drüsige Umbildungen der Hohlraumauskleidung im vorderen ventralen Bereich der Schwimmblase, die „Gasdrüsen" (von Joh. Müller 1839 „zellige Säume" genannt), mit denen die hochkomplizierten Wundernetze der „Roten Körper" (Delaroche 1809) zusammenhängen.

2. Das „Oval", eine besonders dünnhäutige, stark vaskularisierte Stelle, die durch einen Sphincter gegen das Schwimmblasenlumen abgeschlossen werden kann. Das Oval liegt, räumlich von den Gasdrüsen entfernt, im hinteren dorsalen Bereich der Schwimmblase und wird oft durch ein muskulöses Diaphragma von dieser getrennt.

Der zarthäutige, stark durchblutete Bezirk des Ovals wird als Ort der „Resorption" der Gase aus dem Schwimmblasenhohlraum in das Blut angesehen; die Resorption läßt sich unschwer als Diffusionsvorgang erklären, da die Schwimmblasengase einen erheblich höheren Partialdruck aufweisen als die des Blutes. Das Gas dringt in das Schwimmblasenlumen an den „Gasdrüsen" ein; diesen Vorgang hat man als Gas„sekretion" bezeichnet. Es ist jedoch noch nicht völlig geklärt, ob die Drüsenzellen tatsächlich ein gasförmiges Sekret abgeben oder eine Sekretvorstufe, die dann in gasförmige Bestandteile zerfällt, oder ob das Gas, aus anderen Quellen stammend, nur durch die Drüsenzellen hindurch diffundiert.

Die Gegensätze in den Ansichten über dieses Problem gehen bis in die Zeit um die Jahrhundertwende zurück. Hüfner (1892), der als einer der ersten die Absonderung von Gas in der Schwimmblase nachwies, sprach sich für Diffusion aus. Er sah in der Gassekretion die einfachste Form eines „Sekretions"vorganges, weil die abzugebenden Stoffe nicht erst in der Zelle erzeugt werden müßten, sondern schon im Blut vorgebildet seien und nur durch die Zelle hindurch befördert würden.

Mit der Morphologie der Gassekretion befaßten sich erstmalig Jaeger (1903), Reis (1906) und Reis und Nusbaum (1905—1907). Jaeger fand in der Gasdrüse von *Sciaena* zerfallene Blutkörperchen. Auf diesen Befund baute er die Hypothese auf, daß die Gasdrüsen ein Toxin absondern, welches die Blutkörperchen zerstört. Durch den Zerfall des Oxyhämoglobins soll der gesamte Sauerstoff frei werden und einen hohen Partialdruck erreichen. Diese Hypothese hat sich jedoch nicht halten lassen. Einerseits stellte sich heraus, daß sie auf einem Fixierungsartefakt basiert — in dem jahrelang fixierten Präparat waren die Blutkörperchen aufgelöst worden —, zum anderen entzog ihr Bohr (1905) die Grundlage durch folgende Berechnung: Ein Dorsch von 1 kg Gewicht kann im Laufe von 6 Std

leicht 10 cm^3 O_2 sezernieren. Während dieser Zeit müßten alle Blutkörperchen und die gesamte Hämoglobinmenge zerstört und wieder neu gebildet worden sein. Dieser Prozeß spielt sich aber niemals ab.

Reis (1906) und Reis und Nusbaum (1905—1907) nahmen an, daß in den Zellen des Gasdrüsenepithels Zerfallsvorgänge stattfinden, bei denen zunächst körnige und flockige Massen entstehen und aus diesen Gas, das in Blasenform an den Schwimmblasenhohlraum abgegeben wird. Indessen erwiesen sich die vermeintlichen Gasblasen und ihre Vorstufen später gleichfalls als Artefakte.

Auch heute ist noch nicht entschieden, ob die Schwimmblase auf dem Wege der Sekretion oder der Diffusion mit Gas gefüllt wird; deshalb seien die derzeitigen physiologischen Vorstellungen über diesen Vorgang skizziert. Nach Jacobs (1930—1938, 1940), v. Ledebur (1928—1937), Fänge (1945—1958), Copeland (1951—1952), Harden Jones (1951—1957), Hogben (1958), Scholander (1951—1956), Ball, Strittmater, Cooper (1955, 1958) u. a. soll sich die Gassekretion folgendermaßen vollziehen: In den glykogenreichen Zellen der Gasdrüse (Copeland 1952) finden, wohl auf nervöse Reize hin, glykolytische Vorgänge statt (Copeland 1952, Fänge 1953), wobei Milchsäure und CO_2 entstehen (Fänge 1953; Strittmater, Ball and Cooper 1952; Ball, Strittmater and Cooper 1955), die eine Erniedrigung des p_H (Hall 1924, Hogben 1958) im Blut der Gasdrüsenkapillaren verursachen.

Eine wichtige Rolle in diesem Prozeß spielt offenbar das Ferment Carboanhydrase (Leiner und Leiner 1938, Leiner 1940, Sobottka und Kann 1941, Black 1946, Fänge 1953). Im Hinblick auf die Schwimmblase der Cypriniden schrieben Fänge und Mattison (1956): "It would be of interest to examine the distribution . . . of the enzyme carbonic anhydrase in the different layers of the . . . swimbladder because the gas gland epithelium of euphysoclists is characterized by high amounts of these substances" (i.e. Glykogen und Carboanhydrase, Verf.). Wie Fänge (1953) feststellte, kommt durch Injektion eines spezifischen Hemmstoffes für dieses Ferment die Gassekretion zum Stillstand. Durch die Wirkung der Carboanhydrase werden weitere Mengen von CO_2 im Blut freigemacht. Das CO_2 wiederum hat eine stärkere Dissoziation von O_2 aus dem Hämoglobin des Blutes zur Folge (Root 1931, Scholander und van Dam 1954). Da die Gasspannung des Schwimmblaseninhaltes erheblich höher ist als die des Blutes und der umgebenden Gewebe, ist zum Übertritt der Gase in das Schwimmblasenlumen noch eine lokale Erhöhung der Gasspannung notwendig; dies wird durch die vorgeschalteten Wundernetze der Roten Körper bewerkstelligt. Die parallel angeordneten Kapillaren sollen ein Haarnadel-Gegenstrom-Austauschsystem darstellen (Haldane and Priestley 1935, Scholander 1954, Kuhn u. Kuhn 1961), in welchem das die Gasdrüse verlassende venöse Blut seine Gase an das in den arteriellen Kapillaren zur Schwimmblase strömende Blut abgibt. Auf diese Weise werden auf die Roten Körper beschränkte Gasspannungen aufgebaut, die schließlich diejenigen des Schwimmblaseninhaltes übersteigen (Haldane and Priestley 1935, Kuhn u. Kuhn 1961) und zum Übertritt der Gase in die Schwimmblase durch die Gasdrüsenzellen hindurch führen.

Die Gasdrüsen sind nach dieser Auffassung wohl sekretorisch tätig, aber eher nach Art einer innersekretorischen Drüse (Jacobs 1930, 1954), indem sie Stoffe in das Blut abgeben, wodurch die eigentliche Gasabscheidung erst in Gang kommt.

Der weitere Übertritt der Gase in die Schwimmblase verläuft dann als Diffusion. Die Innenfläche des Gasdrüsenepithels ist nach Fänge (1953) mit einem Flüssigkeitsfilm überzogen, in dem sich zunächst Gasblasen nach Art der Seifenblasen bilden sollen, bevor das Gas in den Schwimmblasenhohlraum übertritt. Demgegenüber ist Scholander (1954) der Ansicht, daß die Retia mirabilia zum Aufbau genügend hoher Gasspannungen nicht ausreichen und daß man — zumindest bei Tiefseefischen — eine aktive Sekretion von Sauerstoff durch die Gasdrüsenzellen annehmen muß.

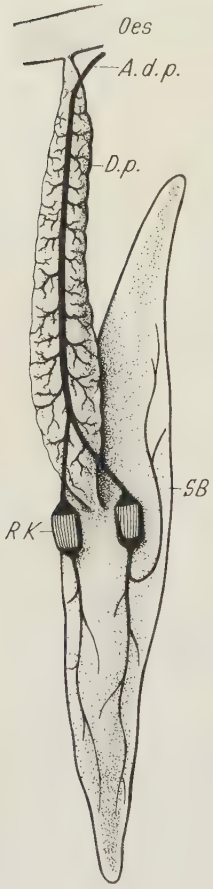

Abb. 1. Schematische Darstellung der Schwimmblase des Aals. Aufsicht auf die linke Seite. Schwimmblase und Ductus pneumaticus leicht gedehnt. *SB* Schwimmblase, *D.p.* Ductus pneumaticus, *A.d.p.* Arteria ductus pneumatici, *RK* Rote Körper, *Oes* Oesophagus

Aufgabe dieser Untersuchung ist es, Struktureigentümlichkeiten in den Schwimmblasengeweben aufzudecken, die auf die besprochenen Funktionen zu beziehen sind. Vor allem ist eine Untersuchung des submikroskopischen Baues der Schwimmblase notwendig, denn außer einer kurzen Notiz über die Feinstruktur des Rete mirabile in der Schwimmblase von *Opsanus tau* (Fawcett und Wittenberg 1959) und der vorläufigen Mitteilung über die vorliegende Untersuchung (Dorn 1960) gibt es meines Wissens bis jetzt nur lichtmikroskopische Bearbeitungen. So kommt es, daß wichtige, zum Bestand jeder Zelle gehörende Strukturen, wie z. B. Mitochondrien und Golgi-Apparat, in Schwimmblasengeweben bisher noch nicht nachgewiesen worden sind. Schon Kenntnisse über diese Organellen würden unter Umständen Rückschlüsse darauf erlauben, ob und inwieweit eine Zelle z. B. sekretorisch tätig ist.

Weiter ist nach besonderen Strukturen an den Stellen zu suchen, an denen bevorzugt Stoffaustauschvorgänge stattfinden. Dies sind vor allem die Wände der Blutgefäße, insbesondere der Kapillaren, deren Permeabilität für den Stoffaustausch zwischen Blut und Umgebung ausschlaggebend ist. Es handelt sich erstens um die Wände der Kapillaren im Roten Körper, wo sich der Gasaustausch zwischen dem Blut in den venösen und arteriellen Kapillaren vollziehen soll, zweitens die Wände der Blutgefäße der Blut-Schwimmblasengas-Schranke, die in der Gasdrüse und in dem resorbierenden Anteil liegt, schließlich die Zellen der an dem Aufbau dieser Schranke beteiligten sonstigen Gewebe.

Als Untersuchungsobjekt wurde die Schwimmblase des *Aals* gewählt, die in vieler Hinsicht eine Besonderheit darstellt (Abb. 1).

Sie ist eine Physostomenschwimmblase, d. h. der Schwimmblasenkörper ist durch einen ansehnlichen Ductus pneumaticus mit dem Darmtractus verbunden. Allerdings ist die Öffnung des Ductus pneumaticus in den Oesophagus sehr klein — zum aktiven Schlucken und Auspressen von Luft wohl kaum geeignet — und

tief versteckt in den Schleimhautfalten des Oesophagus. Darüber hinaus aber ist die Aalschwimmblase mit allen Einrichtungen einer Physoclistenschwimmblase ausgestattet. Vorhanden ist der gassezernierende Anteil, die „Gasdrüse", allerdings in besonderer Ausbildung; sie ist nicht auf einen bestimmten Bezirk in der Wand der Schwimmblase beschränkt, sondern die gesamte epitheliale Auskleidung des Schwimmblasenhohlraums ist als gassezernierender Teil aufzufassen. Es liegt also eine morphologisch besonders einfache, wenn auch sehr ausgedehnte Gasdrüse vor, deren Studium gerade wegen der „schematischen" Einfachheit des Organs Aufschlüsse über den Vorgang der sog. Gassekretion zu liefern verspricht.

Zweitens sind in der Schwimmblase des Aals die der Gasdrüse vorgeschalteten Kapillarbildungen der Wundernetze, die „*Roten Körper*", vorhanden, und zwar wiederum in einer besonderen Anordnung. Während in vielen Physoclistenschwimmblasen Wundernetze und Gasdrüsen nicht voneinander trennbar sind, liegen sie beim Aal weit voneinander entfernt. Die beiden „Roten Körper" der Aalschwimmblase sind nach unseren Kenntnissen die am höchsten komplizierten Wundernetze, die es in Schwimmblasen überhaupt gibt. Es sind doppelte bipolare Wundernetze (J. Müller 1840), die so entstehen, daß die Schwimmblasenarterie sich gabelt, und daß sich dann jeder dieser beiden Äste auf eine sehr kurze Strecke in eine große Anzahl feinster Kapillaren aufspaltet, die in etwa 1 cm langen Bündeln parallel zueinander verlaufen. Am entgegengesetzten Pol der Roten Körper sammeln sich die Kapillaren wieder zu je einem größeren Gefäß. Diese Gefäße laufen zur Schwimmblasenwand und splittern unmittelbar unter dem Schwimmblasenepithel in ein zweites Kapillarnetz auf. Diese Kapillaren vereinigen sich zu Venen, die, entsprechend den Arterien, im Bereich der Roten Körper wiederum in Kapillaren aufbrechen. Diese verlaufen mit den arteriellen Kapillaren innig verflochten parallel, ohne jedoch mit ihnen zu anastomisieren. Am rostralen Pol der Roten Körper vereinigen sich die venösen Kapillaren zu zwei größeren Venen und diese ihrerseits zur Schwimmblasenvene, die zur Pfortader zieht (Pauly 1882, Woodland 1911). Die Kapillaren der Roten Körper und die das Gasdrüsenepithel versorgenden Kapillaren sind beim Aal also voneinander *getrennt*, so daß die beiden Anteile des bipolaren doppelten Wundernetzes gesondert untersucht werden können.

Der resorbierende Anteil schließlich liegt nicht in der Schwimmblasenwand, sondern wird durch den *Ductus pneumaticus* repräsentiert. Besonders interessant ist in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß der Luftgang andere Blutkreislaufverhältnisse hat als die übrige Schwimmblase. Die arterielle Versorgung ist zwar bei beiden gleich. Schwimmblase und Ductus pneumaticus beziehen ihr arterielles Blut aus der Arteria coeliaca. Die venöse Vaskularisation des Ductus pneumaticus dagegen ist eine eigene: Die Vena ductus pneumatici verläuft unmittelbar zum Ductus Cuvieri, wodurch ein eigener kleiner Kreislauf entsteht (Pauly 1882).

Es lassen sich somit an der Schwimmblase des Aals besonders gut diejenigen Stellen isoliert untersuchen, die für den Stoffaustausch wichtig sind:

1. Das Schwimmblasenepithel, 2. die unter ihm verlaufenden Kapillaren, 3. der Ductus pneumaticus, 4. die Kapillaren des Roten Körpers.

B. Material und Methodik

Untersucht wurden die Schwimmblasen von 28 erwachsenen Exemplaren von *Anguilla vulgaris* L. Die Tiere wurden durch Dekapitieren getötet, die Schwimmblase wurde unmittelbar danach entnommen und fixiert. Ein Teil der Schwimmblasen wurde mit Fixierungsflüssigkeit injiziert und in diese eingelegt. Erst nach beendeter Fixierung wurden die Schwimmblasen zerteilt und weiterbehandelt. Bei anderen Exemplaren wurden einzelne Stücke aus der Schwimmblasenwand, dem Ductus pneumaticus und dem Roten Körper entnommen und fixiert.

Fixierungsflüssigkeiten: Susa, Bouin, Formol 1:4, Formol 1:9, Carnoy, Alkohol-Pikrinsäure-Formol nach Gendre, Aceton.

Die fixierten Objekte wurden über Methylbenzoat in Paraffin eingebettet. Es wurden Schnitte von 4—8 μ Dicke angefertigt; von der Schwimmblasenwand Quer- und Flachschnitte, vom Ductus pneumaticus Quer- und Längsschnitte und vom Roten Körper Quer- und Längsschnitte[1].

An den *Paraffinschnitten* wurden folgende Färbungen und Reaktionen ausgeführt: mit Hämatoxylin-Eosin, Eisenhämatoxylin (Heidenhain), Azan (Heidenhain), Trichromfärbung nach Goldner, Gomoris Modifikation der Goldner-Färbung, Chromalaunhämatoxylin-Phloxin nach Gomori, der panoptischen Methode nach Pappenheim und Pappenheim-Cardos, Elastica-Färbung mit Resorcin-Fuchsin, Gitterfaser-Darstellung nach Pap, Orange G-Methylgrün-Toluidinblau nach Korson, Methylenblau, PAS.

Von frischem Material wurden mit dem Kryostat *Gefrierschnitte* hergestellt, die zu folgenden Reaktionen bzw. Färbungen verwendet wurden: Nachweis der Carboanhydrase nach Häusler, Darstellung der Bernsteinsäuredehydrogenase, Lipoiddarstellung mit Nilblausulfat, Sudanschwarz B, Scharlachrot, Färbung mit Methylgrün-Pyronin.

Ferner wurden Totalpräparate von Schwimmblasen angefertigt. Die Schwimmblasen wurden zu diesem Zweck längs aufgeschnitten und aufgespannt in Formol fixiert. Danach wurden folgende Färbungen ausgeführt: Resorcin-Fuchsin-Chromotrop 2R (nach Petry) zur Darstellung der elastischen Fasern, Hämatoxylin zur Darstellung der Muskulatur.

Außerdem wurden die Blutgefäße der Schwimmblase injiziert. Am in Urethanwasser narkotisierten Tier wurden die Schwimmblasengefäße in situ von der Aorta descendens aus mit unverdünntem Scribtol injiziert. Nach der Injektion wurde die Schwimmblase herausgenommen, in toto in Formol fixiert und nach Entwässerung aufgehellt in Wintergrünöl.

Elektronenmikroskopische Untersuchung[2]. Stücke von Schwimmblasenwand, Ductus pneumaticus und Rotem Körper wurden in gepufferter 1- und 2%iger Osmiumsäurelösung (nach Sjöstrand) 2 bzw. 4 Std fixiert. Nach Entwässerung in Alkohol wurde in Butyl- und Methylmethacrylat (10:1 bzw. 11:1 mit 2,5% Perkadox als Aktivator) eingebettet. Mit dem Ultramikrotom nach Porter-Blum wurden Dünnschnitte angefertigt. Die Schnitte wurden mit dem Siemens Elmiskop I (Strahlspannung 80 kV) untersucht. Die Aufnahmen wurden von Frau Dr. A. Knoop angefertigt.

C. Befunde

I. Lichtmikroskopische Befunde

1. Schwimmblase. Die Wand der Aalschwimmblase wird in der älteren Literatur (z. B. Oppel 1905) als aus einer Lamina interna, Lamina externa und Serosa bestehend geschildert. Indessen empfiehlt es sich, der von Fänge (1953) vorgeschlagenen Terminologie zu folgen, die sich an die auf die Wandung des Darmtraktus angewendeten Bezeichnungen anschließt.

Ein Querschnitt durch die Schwimmblasenwand (Abb. 2) zeigt die Folge von Schichten, die für alle Stellen der Schwimmblase charakteristisch ist. Es folgen aufeinander von außen, d. h. von der sog. Serosa aus, nach innen:

[1] Fräulein K. Jacob danke ich für ihre Unterstützung in Mikrotechnik und Mikrophotographie.

[2] Frau Dr. rer. nat. A. Knoop danke ich für die Hilfe im Laboratorium der Elektronenmikroskopischen Abteilung des Anatomischen Institutes der Universität Kiel.

a) Die Submucosa. Es handelt sich um ein lockeres Bindegewebe, das von einem feinen Filz argyrophiler Fäserchen durchzogen wird. Der schon von den älteren

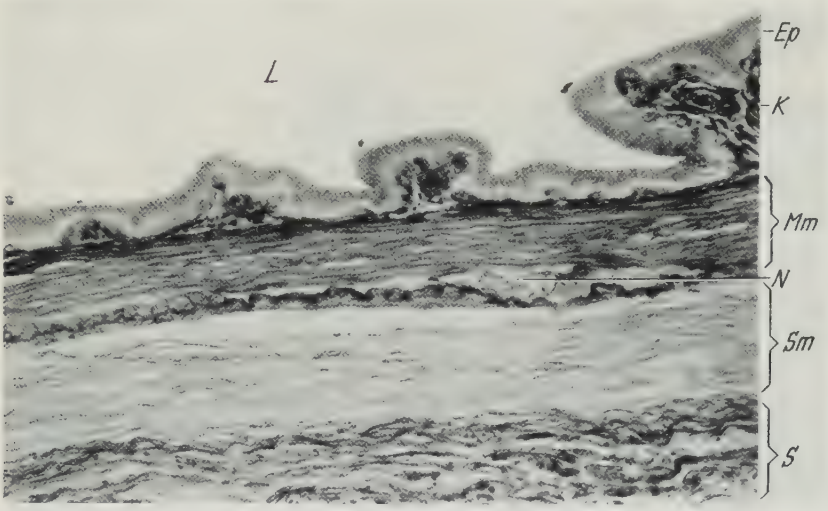

Abb. 2. Folge der Schichten in der Schwimmblasenwand. Paraffinschnitt, 6 μ, Azan. *L* Schwimmblasenlumen, *Ep* Schwimmblasenepithel, *K* Kapillaren, *Mm* Muscularis mucosae, *N* Nerven in der Muscularis mucosae, *Sm* Submucosa, *S* Serosa. Vergr. 170fach

Autoren erwähnte lamellenartige Aufbau ist besonders gut an nativen Kryostatschnitten zu beobachten. Hier zeigt sich, daß die Lamellen der Submucosa bei verhältnismäßig kollabierter Schwimmblase in zickzackförmigen Falten liegen. Bemerkenswert ist die Reaktion dieser Schicht auf Lipoiddarstellungsmethoden: Mit Scharlachrot färbt sie sich leuchtend rot, mit Nilblausulfat blau,. mit Sudanschwarz B dunkel-schwarzblau.

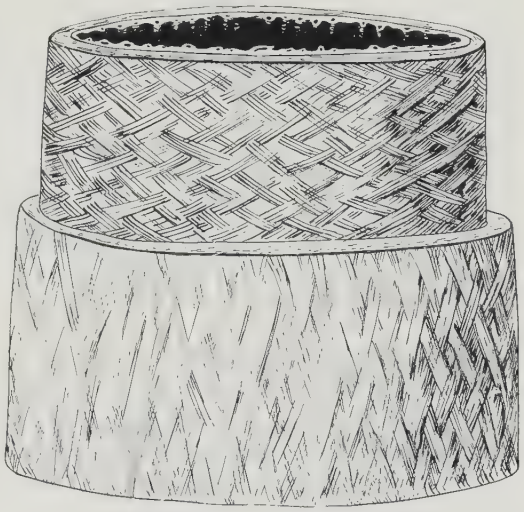

Abb.3. Schematische Darstellung der Anordnung der Muskelfasern in der Muscularis mucosae der Schwimmblase

b) Die Muscularis mucosae. Diese Schicht besteht aus mehreren Lagen von glatten Muskelzellen, die in verschiedenen Richtungen verlaufen; die Schichten sind aber nicht scharf voneinander zu trennen (Abb. 3). Die am weitesten innen liegenden Muskelschichten zeigen einen vorwiegend zirkulären, die außen sich anschließenden einen mehr longitudinalen Verlauf ihrer Elemente. Die Zellen der inneren Muskelschichten ziehen in flachen Windungen um den Schwimmblasenkörper herum, und zwar so, daß die einzelnen Lagen einander überkreuzen

und wohl auch durchflechten. Es resultiert eine Art *Scherengitter*, dessen Maschen verstellbar sind. Die Zellen der äußeren Muskelschichten überkreuzen sich in ähnlicher Weise, doch sind ihre Windungen sehr viel steiler, so daß im Scherengitter dieser Region longitudinal orientierte Schlingen vorherrschen. Die Muskelzellen werden von einem feinen Netzwerk sehr zarter elastischer Fasern umgeben (Abb. 4), die sich hauptsächlich in Längsrichtung auszubreiten scheinen. Eine auffallend kräftige Schicht elastischer Fasern wird regelmäßig zwischen der äußersten dünnen Muskellage und der übrigen Muscularis mucosae angetroffen. Zahlreiche Nervenfasern durchziehen die Muscularis mucosae (s. Abb. 2).

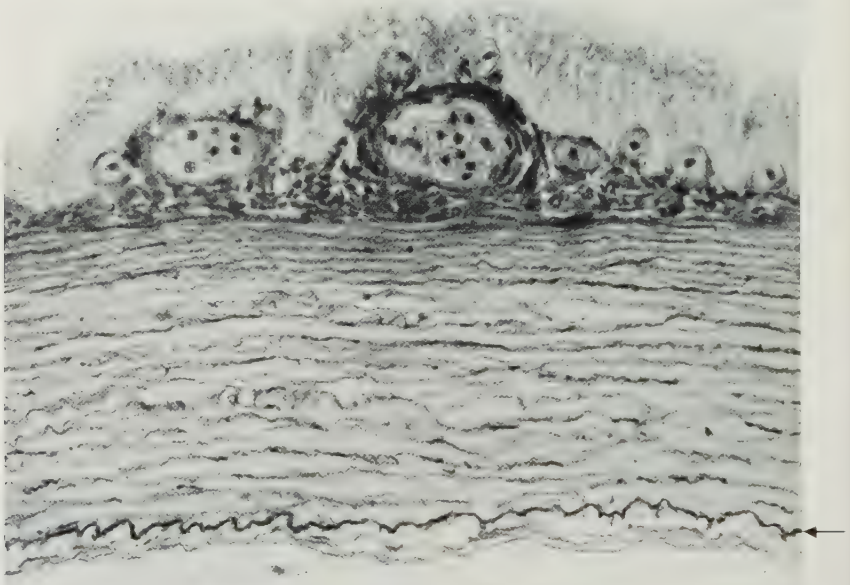

Abb. 4. Schnitt durch die Schwimmblasenwand, Darstellung der elastischen Fasern mit Resorcin-Fuchsin. Äußerste Faserschicht besonders kräftig ←. Paraffinschnitt, 6 μ, Vergr. 480fach

c) Die Lamina propria. Diese „innere gefäßführende Bindegewebsschicht" der älteren Autoren schließt sich innen an die Muskelschicht an. In ihr liegt das sehr dichte Blutgefäßnetz der Schwimmblase (Abb. 5). Am frischen Objekt schimmert die blutreiche Lamina propria rosig durch die silbrig glänzende äußere Umhüllung der Schwimmblase hindurch.

Das Gefäßnetz der Schwimmblase entspringt aus der Schwimmblasenarterie, die in Längsrichtung der Schwimmblase zieht und sich in zahlreiche Gefäße aufspaltet, die ihrerseits wieder in ein dichtes, feines Kapillarnetz übergehen (Abb. 5). Die Anordnung der Gefäße ist regional verschieden. Im rostralen Schwimmblasenbereich zeigt das Kapillarnetz eine mehr flächenhafte Ausbreitung (Abb. 6). Im mittleren Schwimmblasenbereich treffen wir parallel und überwiegend in Längsrichtung der Blase ziehende Gefäße (Abb. 7), im caudalen Abschnitt mehr baumartig sich aufspaltende (Abb. 8). Arterieller und venöser Gefäßanteil laufen in den meisten Fällen parallel, entweder nebeneinander, oder — anscheinend häufiger — in verschiedener Höhe. Beide werden verbunden durch sich

verzweigende arkadenartig verlaufende Kapillarschlingen (Abb. 9). Das Gefäßnetz ist hier nicht flächig, sondern dreidimensional angeordnet.

d) Das Epithel der Mucosa. Das einschichtige Epithel der Schleimhaut liegt unmittelbar über den Gefäßen. Es wird von diesen lumenwärts vorgewulstet und in Falten gelegt. Die Aufsicht auf die Schleimhaut (Abb. 10) läßt ein Relief erkennen, das ein getreues Abbild des Gefäßverlaufes darstellt. Besonders deutlich zeigt ein Flachschnitt durch die Mucosa die Falten, welche die Schleimhaut über den Gefäßen bildet. Die Zellen des Schwimmblasenepithels sind kubisch bis prismatisch (Abb. 11). Ihre Oberfläche ist gegen das Lumen hin leicht vorgewölbt. Im apikalen Drittel der Zellen liegen die runden Kerne mit einem gut erkennbaren zentral gelegenen Nucleolus.

Abb. 5. Kapillaren der Schwimmblase, injiziert mit Scribtol, Totalpräparat, aufgehellt in Wintergrünöl. Vergr. etwa 4fach

Das Cytoplasma der Epithelzellen ist unterschiedlich dicht. Neben Zellen mit hellem, locker erscheinendem Cytoplasma liegen solche, deren Cytoplasma sehr viel stärker gefärbt erscheint. Im ganzen wirkt der Zelleib aber aufgelockert, besonders in der basalen Zellregion, wo sich an vielen Stellen sogar Vakuolen befinden. In Hämatoxylin-Eosin-Präparaten erscheint die basale Region der Zellen etwas bläulicher tingiert als das übrige Cytoplasma. Bisweilen findet sich hier auch die Andeutung einer feinen Längsstreifung. Überall im Cytoplasma liegt eine feine, stäubchenartige Granulation, die in Hämatoxylin-Eosin-Präparaten scharf hellblau, in nach Pappenheim gefärbten Schnitten mehr kobaltblau hervortritt. Hiervon deutlich unterschieden sind die recht zahlreichen, viel größeren Granula (Abb. 12), die überwiegend in der oberen Hälfte der Epithelzellen vorkommen, während in diesen Fällen die basale Hälfte der Zellen besonders hell, mitunter geradezu „leer“ wirkt. Diese Granula tingieren sich bei Färbung mit Hämatoxylin-Eosin violett-rot, mit Azan gelblich-rot, mit Chromalaun-hämatoxylin-Phloxin (Gomori) phloxinrot, nach Pappenheim kobalt- bis

ultramarinblau. In nativen Kryostatschnitten lassen sich mit Scharlachrot zahlreiche rote Granula vor allem im basalen Abschnitt der Epithelzellen darstellen.

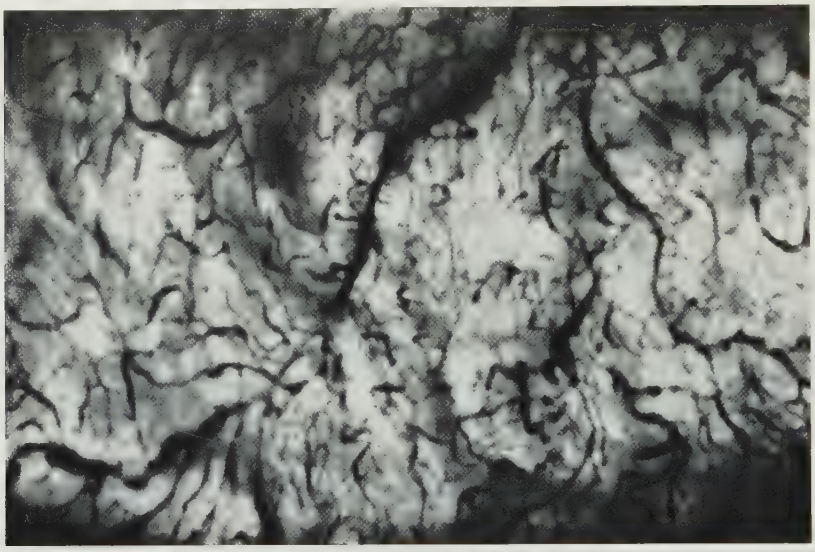

Abb. 6. Kapillaren der rostralen Schwimmblasenregion, flächenhafte Ausdehnung. Behandlung wie bei Abb. 5, Vergr. 120fach

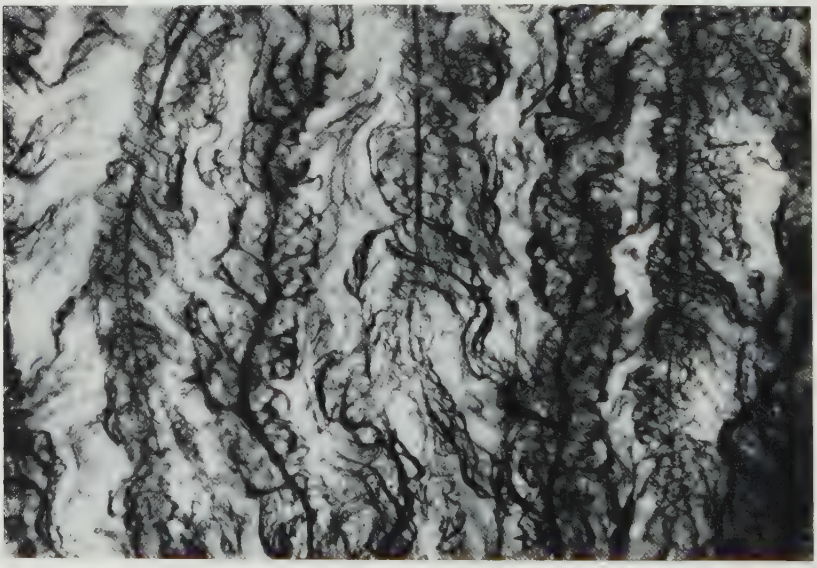

Abb. 7. Kapillaren der mittleren Schwimmblasenregion. Behandlung wie bei Abb. 5, Vergr. 35fach

Die Untersuchung auf *Carboanhydrase* läßt auf eine hohe Fermentaktivität in den Epithelzellen schließen. Schon nach kurzer Inkubationszeit (3—5 min) ist das Reaktionsprodukt in der basalen Region der Epithelzellen als schwarzer Niederschlag nachzuweisen (Abb. 13).

2. Der Ductus pneumaticus. Der Ductus pneumaticus zieht etwa von der Mitte der Schwimmblase ab rostralwärts an ihrer linken Seite entlang zum Oesophagus

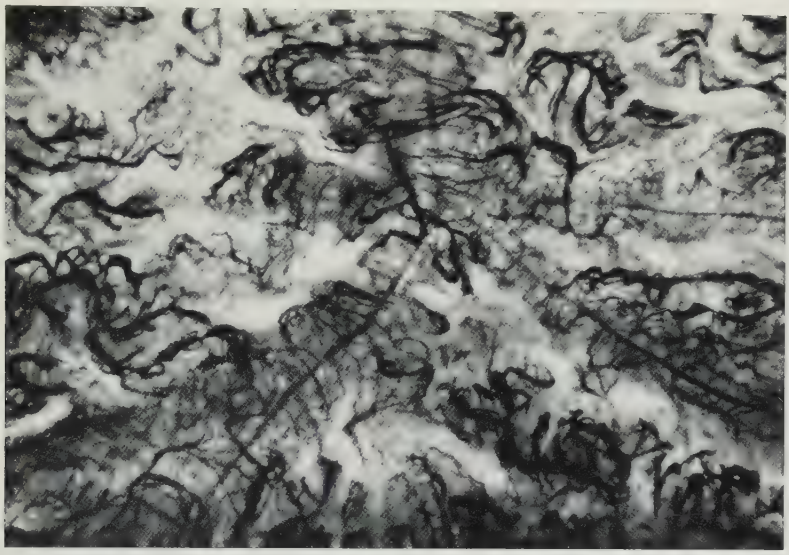

Abb. 8. Kapillaren der caudalen Schwimmblasenregion. Behandlung wie bei Abb. 5, Vergr. 35fach

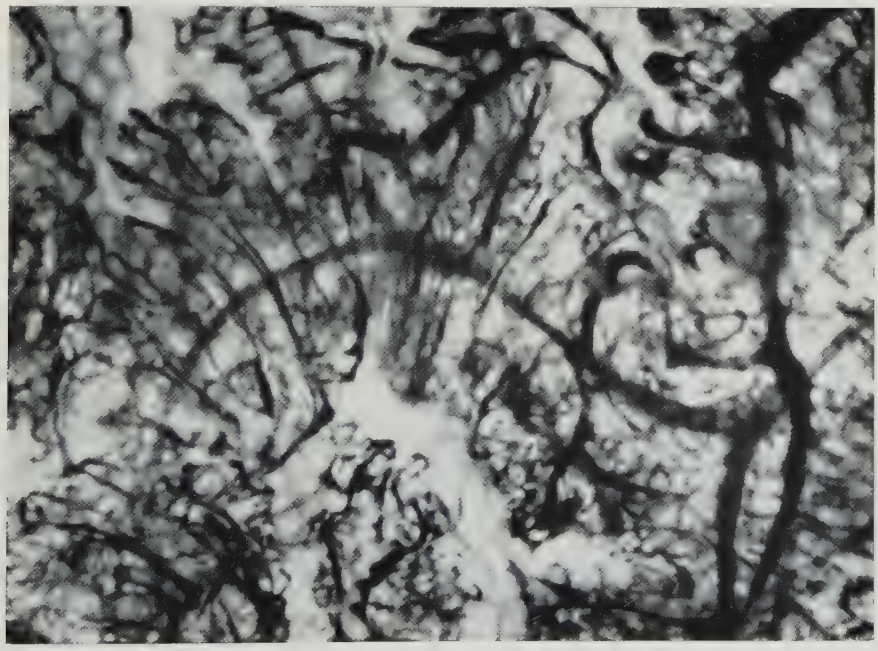

Abb. 9. Arkadenartig angeordnete Kapillaren aus der mittleren Region der Schwimmblase. Behandlung wie bei Abb. 5, Vergr. 110fach

(Abb. 1). Sein Anfang liegt an der linken Seite der Schwimmblase zwischen den dorsal und ventral gelegenen Roten Körpern. Auffallend ist seine große *Dehnbarkeit*. Man findet ihn dementsprechend bei verschiedenen Tieren in einem ganz

verschiedenen Grad der Expansion. In stark gedehntem Zustand kann der Ductus pneumaticus beinahe die Größe der Schwimmblase erreichen. Er wirkt dann glasartig durchsichtig, von einem leuchtend roten, sehr dichten Netz von Blutgefäßen umsponnen, die ebenfalls sehr stark dilatiert sind.

Zwei große Gefäße ziehen an der Seite des Luftganges entlang: einmal die Arteria vesicae aus der Arteria coeliaca, die während ihres Verlaufs entlang dem Ductus pneumaticus an diesen die genannten zahlreichen Gefäße abgibt, sich dann

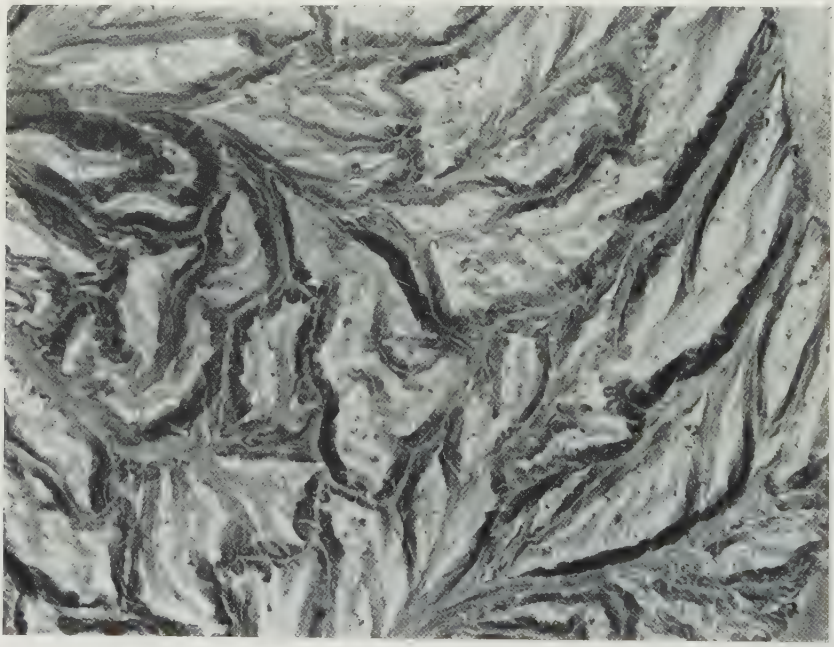

Abb. 10. Schleimhautrelief der Schwimmblase, Totalpräparat, Resorcin-Fuchsin-Chromotrop 2 R, Vergr. 35fach

gabelt und zu den Kapillarsystemen der Roten Körper aufspaltet. Das zweite Gefäß an der Wand des Ductus ist die Vena ductus pneumatici, die nach Aufnahme der zahlreichen Venen des Luftganges allein zum rechten Ductus Cuvieri verläuft; auf diese Weise stellt sie einen kleinen Kreislauf her.

Auch die Wandung des Ductus pneumaticus läßt einen Aufbau aus Schichten erkennen, wie der Querschnitt (Abb. 14) zeigt. Von innen nach außen folgen aufeinander:

a) Das Epithel der Mucosa. Das Lumen des Ductus wird von einem äußerst zarten, flachen, mit dem Lichtmikroskop eben unterscheidbaren Epithelbelag ausgekleidet (Abb. 15). Dieser überzieht zahlreiche, sehr hohe Falten der Propria, die kleinere Sekundärfalten tragen. Das Epithel wird unterlagert von einer großen Anzahl sehr weitlumiger Blutgefäße vom Typ der Sinuskapillaren. Diese liegen dicht nebeneinander und in mehreren Schichten übereinander. Sie sind eingebettet in das lockere Bindegewebe der

b) Lamina propria, das von nur wenigen elastischen Fasern durchsetzt ist.

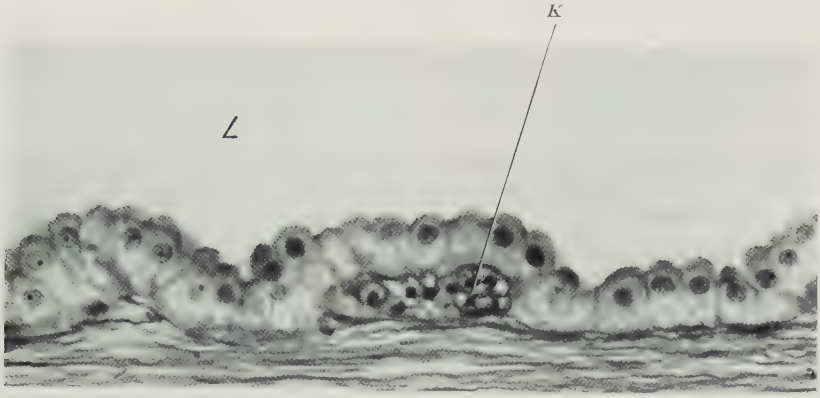

Abb. 11. Schwimmblasenepithel, Paraffinschnitt, 6 μ, Azan. *L* Schwimmblasenlumen, *K* Kapillare. Vergr. 520fach

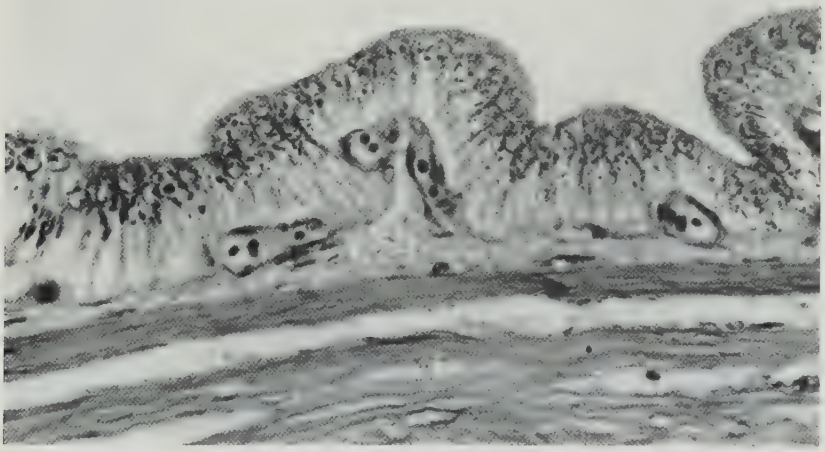

Abb. 12. Granula im Schwimmblasenepithel. Paraffinschnitt, 6 μ. Panoptische Färbung nach PAPPENHEIM. Vergr. 170fach

c) Die Muscularis mucosae. Die innerste Schicht der Muscularis mucosae ist eine Lage von glatten Ringmuskeln, die aber nicht allenhalben ein geschlossenes Rohr um den Gang herum bilden. Es kommen z. B. tiefe Aussackungen der Schleimhaut vor, in deren Umgebung die Muskelschicht eine Lücke aufweist (Abb. 16). Die Ringmuskelfasern umziehen den Gang in flachen Spiraltouren, wie sich am Längsschnitt (Abb. 17) erkennen läßt. Zwei Systeme verlaufen in entgegengesetzter Richtung und durchflechten einander, so daß auch hier wieder ein *Scherengitter* ausgebildet ist. Nach außen folgt die Längsmuskulatur, die aber keine geschlossene Schicht bildet.

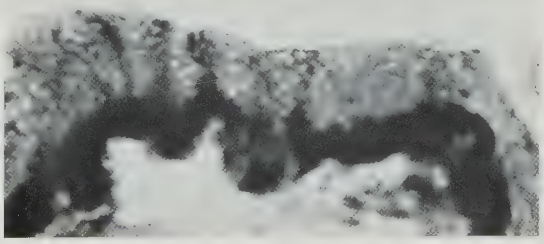

Abb. 13. Darstellung der Carboanhydrase im Schwimmblasenepithel, Kryostatschnitt, 10 μ. Carboanhydrasedarstellung nach HÄUSLER, Reaktionsprodukt in der basalen Region der Epithelzellen. Vergr. 1240fach

Der Ringmuskelschicht lagern in ziemlich gleichmäßigen Abständen außen *marklose Nerven* auf, die in Längsrichtung des Ductus verlaufen. Die Nerven werden jeweils von einer halbkreis- bis kreisförmigen *Manschette von Längs-*

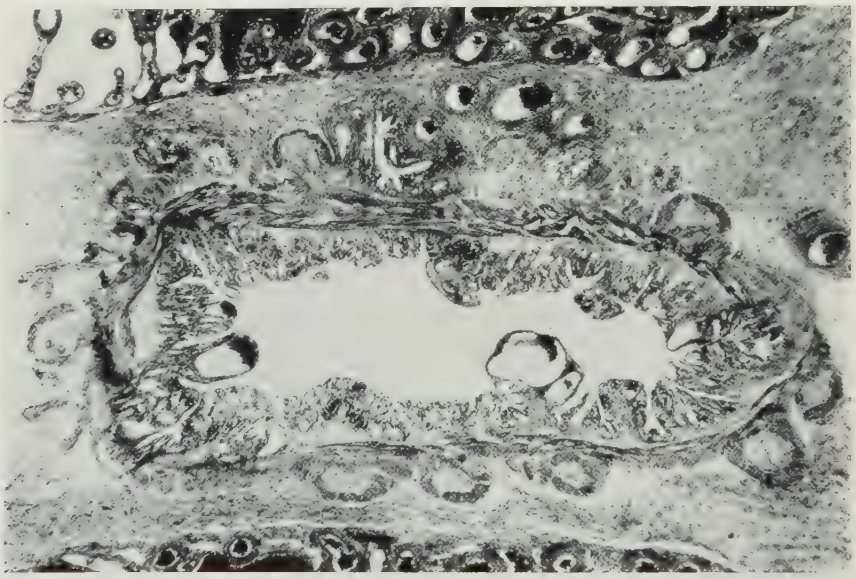

Abb. 14. Querschnitt durch den Ductus pneumaticus nahe der Kommunikation mit dem Schwimmblasenlumen (Bildmitte). Paraffinschnitt, 6 μ, Azan, Vergr. 42fach

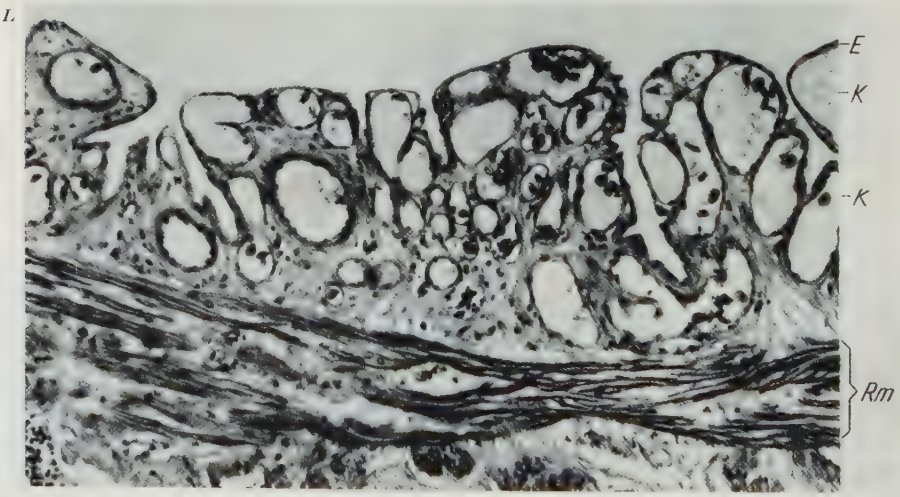

Abb. 15. Querschnitt durch die Wand des Ductus pneumaticus, gefaltetes Epithel (*E*) mit unterlagernden Kapillaren (*K*). *Rm* Ringmuskulatur, *L* Lumen. Paraffinschnitt, 6 μ, Azan, Vergr. 170fach

muskelbündeln umgeben (Abb. 18). Diese Längsmuskelbündel gehen offenbar aus den Ringmuskeln hervor, dergestalt, daß aus einer flachen Spiralwindung ein Bündel ausschert, umbiegt und — dem Längsverlauf des Ductus folgend — parallel zu den Nerven verläuft (Abb. 19). Offenbar strahlen solche Bündel longitudinaler Muskeln an einer anderen Stelle wieder in die Ringmuskulatur ein, um wieder in

deren flachen Spiraltouren zu verlaufen. Die Bedeutung der Muskelhüllen um die Nerven mag darin bestehen, die Nerven bei den starken Volumenschwankungen des Ductus vor Dehnung und Verlagerung zu schützen. Die Nerven nehmen ihren Ursprung von zahlreichen großen Ganglien, die der Wand des Ductus angelagert sind. Die gelegentlich anzutreffende Lappung der Zellkerne kann das Bild einer Amitose vortäuschen.

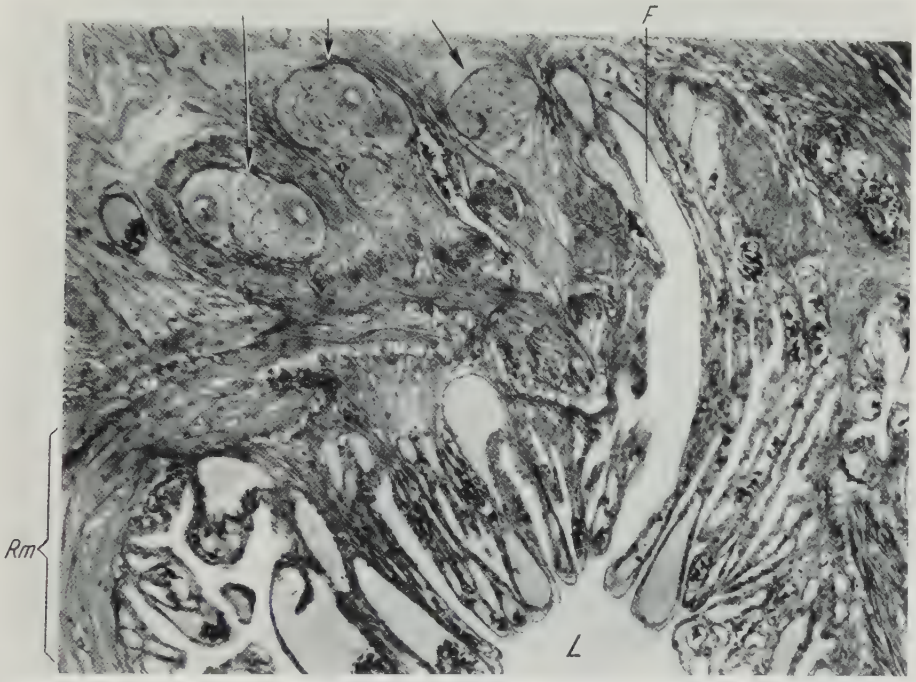

Abb. 16. Querschnitt durch die Wand des Ductus pneumaticus. Chrom-Hämatoxylin-Phloxin (Gomori), Falte des Epithels (*F*) unterbricht Ringmuskelschicht (*Rm*), *L* Ductuslumen, → Nerven mit Ganglienzellen. Vergr. 120fach

Wenn sich auch die Schichtenfolge über den ganzen Verlauf des Ductus pneumaticus nicht ändert, so zeigt doch der Querschnitt in den verschiedenen Regionen ein etwas unterschiedliches Aussehen. Nahe der Kommunikation mit dem Hohlraum der Schwimmblase, zwischen den Roten Körpern, ist die Mucosa des Ductus pneumaticus besonders reich gefaltet (s. Abb. 15), die Zahl und das Kaliber der Blutgefäße sind besonders groß. Im übrigen freien Bereich (Abb. 20) dagegen sind die Falten weniger voluminös; sie werden vorzugsweise von kleineren Gefäßen unterlagert.

3. Die Roten Körper. Die Roten Körper liegen dorsal und ventral von dem an der linken Seite der Schwimmblase gelegenen Anfang des Ductus pneumaticus. Ihre charakteristische Form kommt dadurch zustande, daß die Schwimmblasenarterie sich in zwei Schenkel teilt, die sich auf einer sehr kurzen Strecke in eine große Anzahl von Arteriolen fortsetzen, die wiederum sogleich in sehr viele, parallel verlaufende Kapillaren aufsplittern. Diese vereinigen sich am entgegengesetzten Pol der Roten Körper ebenso rasch wieder zu wenigen Gefäßen und diese wiederum zu einer Arterie, die in der Wand der Schwimmblase caudalwärts zieht und das schon besprochene Kapillarnetz des Schwimmblasenepithels liefert. Die aus diesen Kapillaren hervorgehende Vene bricht in den Roten Körpern ganz entsprechend der Arterie

in Kapillaren auf, die sich schließlich zur Schwimmblasenvene vereinigen. Diese Gefäßanordnung wurde von Joh. Müller (1840) als „rete mirabile bipolare geminum“ bezeichnet. Woodlands (1911) schematische Darstellung dieses Wundernetzes geht bis zum heutigen Tage durch alle Lehrbücher und einschlägigen Publikationen.

Ein Längsschnitt durch einen Roten Körper (Abb. 21) läßt erstens erkennen, innerhalb welch kurzer Strecke die Aufteilung der Arterien und Venen in die parallel verlaufenden Kapillaren erfolgt. Zweitens zeigt er die *Melanophoren*, die in großer Anzahl den Gefäßwänden am rostralen konischen Abschnitt der Roten Körper aufgelagert sind. Dieser Abschnitt fällt schon makroskopisch durch seine dunkle Pigmentierung auf, sie ist auf diesen Bezirk beschränkt und gegen den aus Kapillaren bestehenden Abschnitt scharf und geradlinig abgegrenzt.

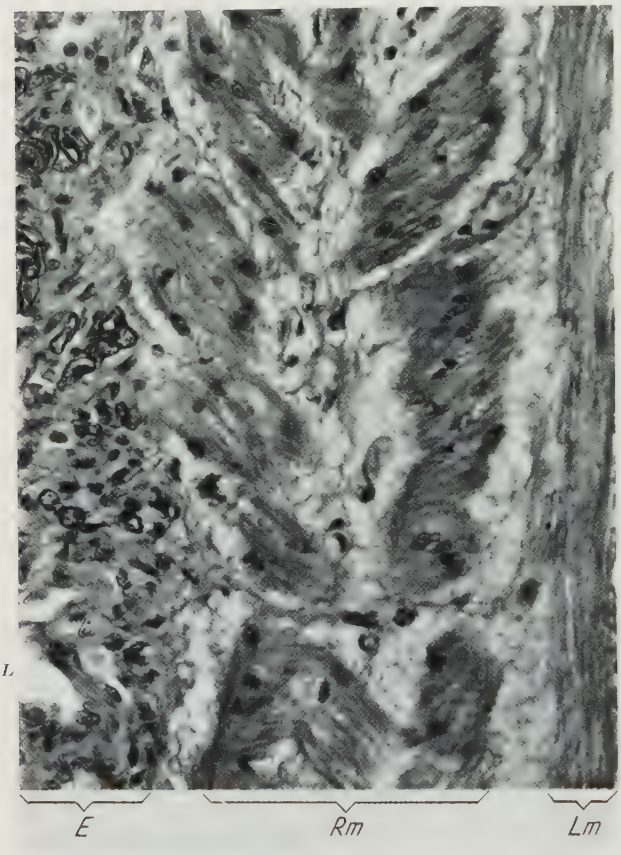

Abb. 17. Längsschnitt durch die Wandung des Ductus pneumaticus, links Lumen (*L*), begrenzt vom Epithel (*E*), mitten zwei entgegengesetzt verlaufende Anteile der Ringmuskulatur (*Rm*), rechts Längsmuskulatur (*Lm*). Paraffinschnitt, 6 μ, Trichromfärbung nach Goldner, Vergr. 480fach

Das zwischen den aufsplitternden Gefäßen in dem konischen Teil der Roten Körper gelegene Bindegewebe enthält zahlreiche elastische Fasern. Ein Längsschnitt zeigt außer der Aufspaltung der Gefäße (Abb. 22) auch die äußerst dichte Aneinanderlagerung der Kapillaren, die den größten Teil des Roten Körpers einnehmen (Abb. 23). Die Wände der Kapillaren sind von einem dichten Geflecht argyrophiler Fäserchen umsponnen. Die parallel verlaufenden Kapillaren beschreiben einen leichten Bogen; der Rote Körper hat einen etwa nierenförmigen Umriß. Aus dieser Anordnung erklärt sich auch die Gefäßverteilung, die man auf Querschnittspräparaten meist erkennt. Hier liegen nämlich stets an der dem Ductus pneumaticus zugekehrten Seite die weiterlumigen Gefäße, zum äußeren Rand hin dagegen die engerlumigen. Auf Querschnitten durch den konischen Teil der Roten Körper (Abb. 24) lassen sich neben Arterien Venen mit auffallend weitem Lumen feststellen. Ein etwas weiter zum Kapillarbezirk hin liegender

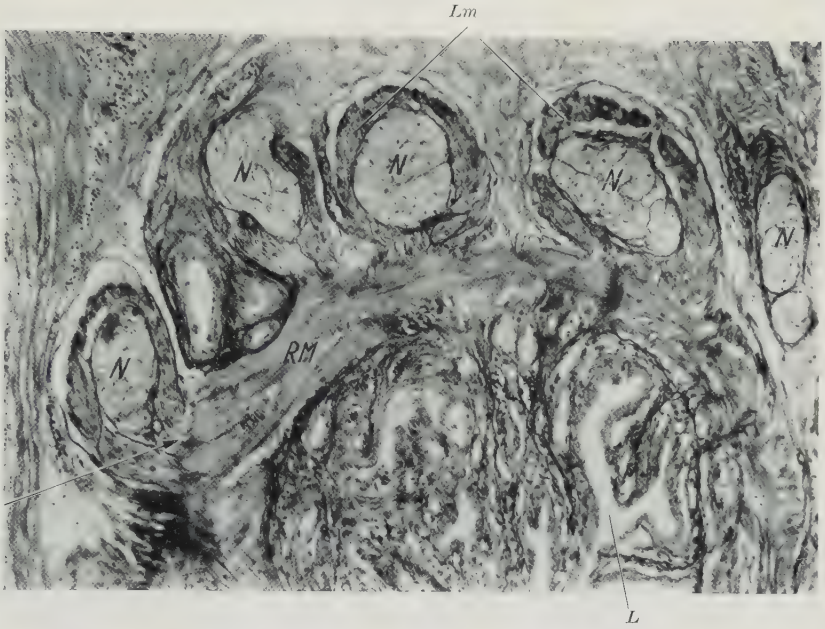

Abb. 18. Querschnitt durch die Wandung des Ductus pneumaticus, Region und Behandlung wie bei Abb. 14. *L* Lumen, von gefaltetem Epithel umgeben, *Rm* Ringmuskelschicht, bei → Übergang von Ringmuskelfasern in Längsmuskeln (*Lm*), die als Manschetten die Nerven (*N*) umhüllen. Vergr. 120fach

Schnitt (Abb. 25) zeigt die großen Gefäße an der ductuswärtigen Seite, an den Außenseiten aber bereits die Kapillaren.

Noch innerhalb des Kapillarbereiches sind Unterschiede im *Querschnittsmuster* festzustellen (Abb. 26). An der dem Ductus pneumaticus zugekehrten Seite sind enger- und weiterlumige Kapillare so angeordnet, daß immer ein Querschnitt eines größerkalibrigen Gefäßes von einem Kranz von engerlumigen Kapillarquerschnitten umgeben ist. An der Außenseite des Roten Körpers jedoch liegt ein dichtes, engmaschiges Netz von Kapillaren mit gleichweiten Querschnitten.

II. Elektronenmikroskopische Befunde

1. Schwimmblasenepithel. Am Schwimmblasenepithel lassen sich schon auf den ersten Blick zwei Formen von Epithelzellen auf Grund ihrer unterschiedlichen elektronenoptischen Dichte unterscheiden: Die einen sind wenig dicht, sie erscheinen hell und werden daher im folgenden kurz als „helle Epithelzellen" bezeichnet. Die zweite Form erscheint viel dunkler und sehr dicht; diese Elemente seien kurz „dunkle" oder „dichte Epithelzellen" genannt. Daß über diesen

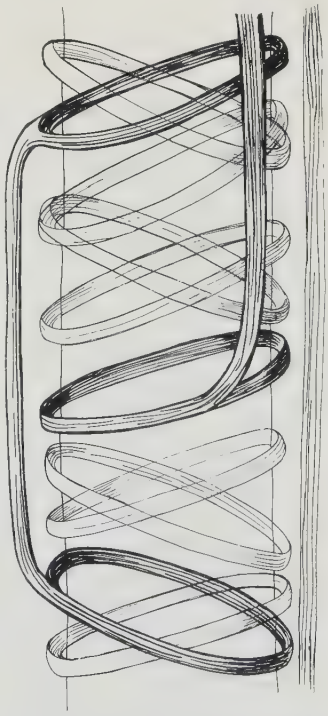

Abb. 19. Schematische Darstellung der Anordnung der Muskulatur im Ductus pneumaticus. Näheres im Text

ersten augenfälligen Unterschied hinaus noch Verschiedenheiten zwischen den beiden Epithelzellformen bestehen, soll im folgenden dargelegt werden (vgl. Schema Abb. 37).

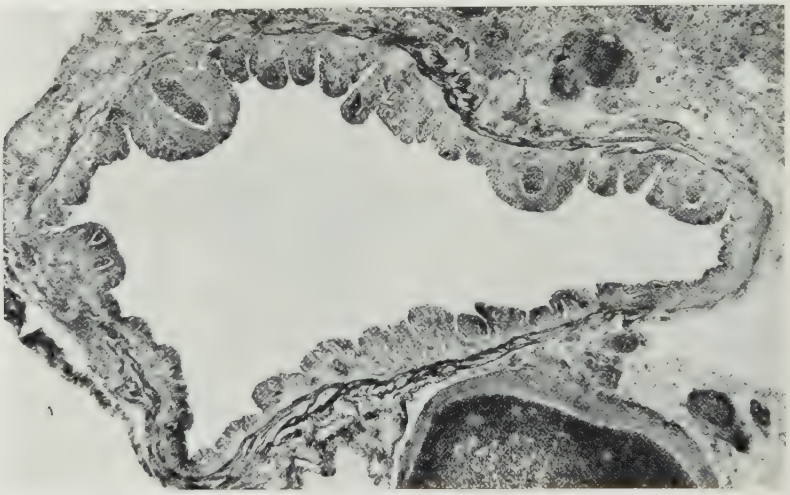

Abb. 20. Querschnitt durch den freien Abschnitt des Ductus pneumaticus, Paraffinschnitt, 6 μ, Azan, Vergr. 43fach

a) „Helle" Epithelzellen. Die hellen Epithelzellen sind kubisch bis hochkubisch. Die lumenwärtige Oberfläche jeder Zelle wölbt sich etwas vor (Abb. 27). Die freie Zelloberfläche trägt unauffällige feine, niedrige Mikrovilli. Die Grenzen zur benachbarten Zelle sind äußerst mannigfaltig gestaltet:

Abb. 21. Längsschnitt durch den Roten Körper, etwas schematisierte Darstellung

1. Besonders in der Nähe der freien Epitheloberfläche sind feine Verzahnungen der Zellmembran ausgebildet. Unmittelbar unter der Epitheloberfläche finden sich Cytodesmen (Abb. 27).

2. Nur sehr selten weichen die benachbarten Zellen auseinander und lassen zwischen sich schmale Spalträume frei (Abb. 28).

3. An einigen Stellen — vornehmlich im mittleren Zellbereich — hat man den Eindruck, daß die Membranen zwischen den Zellen nicht durchlaufen; sie scheinen von Cytoplasmabrücken unterbrochen (Abb. 27). Es ist schwer zu entscheiden, ob hier etwa gefaltete Abschnitte der Zellmembran schräg getroffen wurden, so daß eine Unterbrechung vorgetäuscht wird, oder ob es sich tatsächlich um Cytoplasmabrücken handelt.

4. Nahe der Basis des Epithels sind die Zellen besonders stark und dicht verzahnt. Die Zellgrenzen zeigen einen eng mäandrischen Verlauf (Abb. 27). Hier sind Hohlraumbildungen zwischen den Zellen häufig, wie Abb. 29 erkennen läßt.

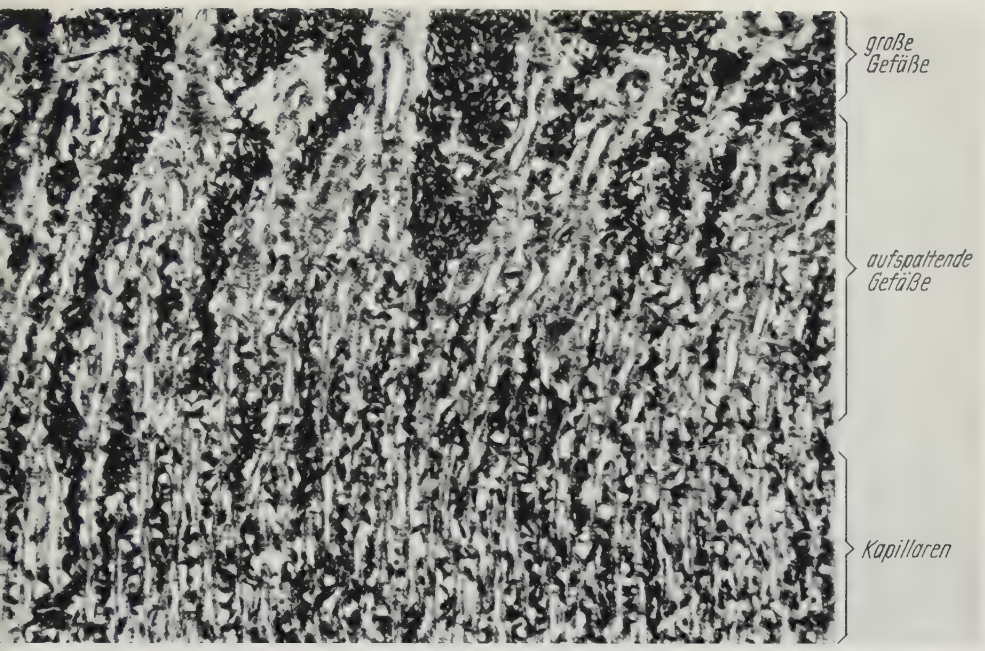

Abb. 22. Roter Körper, Längsschnitt durch die Region der aufspaltenden Gefäße. Am oberen Bildrand große Gefäße, Bildmitte: aufspaltende Gefäße, unterer Bildrand: parallel verlaufende Kapillaren. Blutkörperchen dunkel. Paraffinschnitt, 6 μ, Trichromfärbung nach GOLDNER, Vergr. 170fach

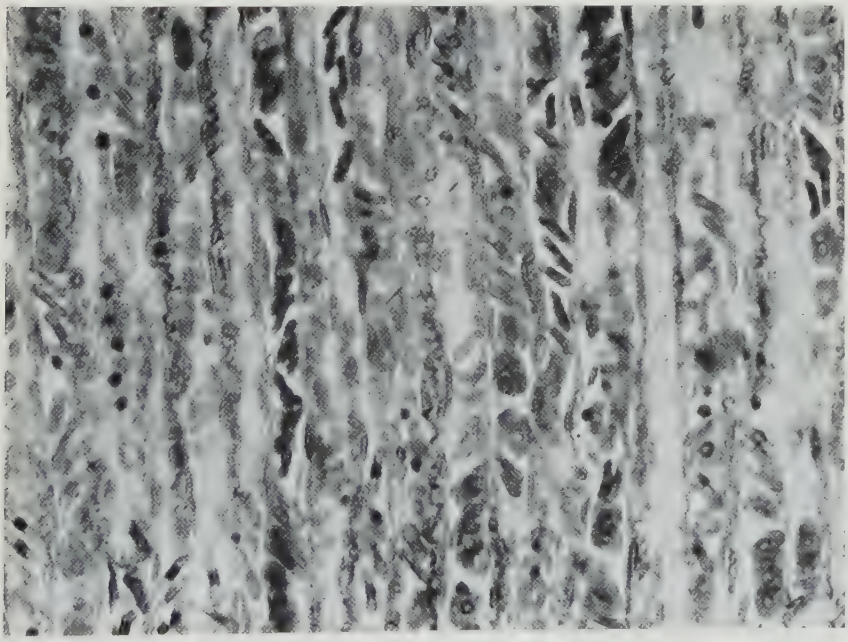

Abb. 23. Längsschnitt durch den mittleren Bereich des Roten Körpers, parallel verlaufende Kapillaren. Paraffinschnitt, 6 μ, Azan, Vergr. 520fach

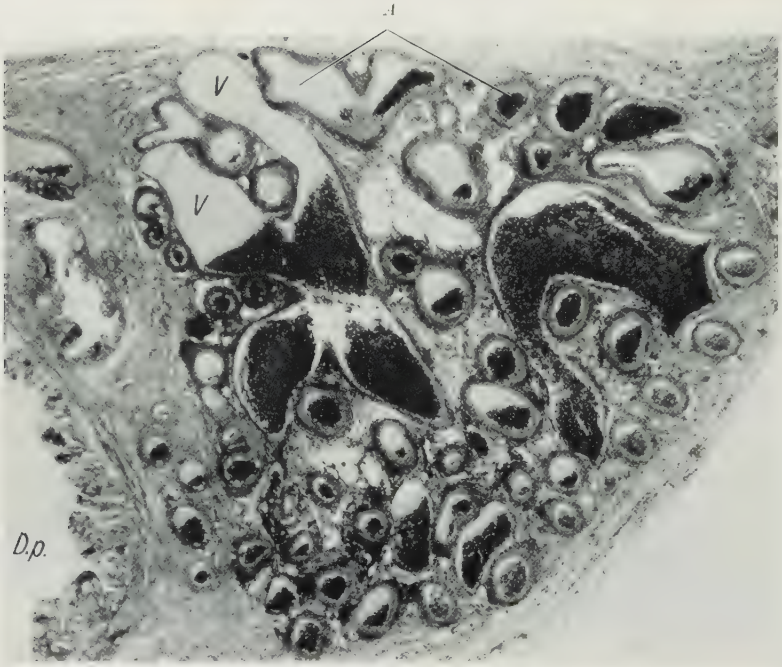

Abb. 24. Querschnitt durch den Roten Körper nahe seinem rostralen Pol. Links Anschnitt des Ductus pneumaticus (*D.p.*), *A* Arterien, *V* Venen. Paraffinschnitt, 6 μ, Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 31fach

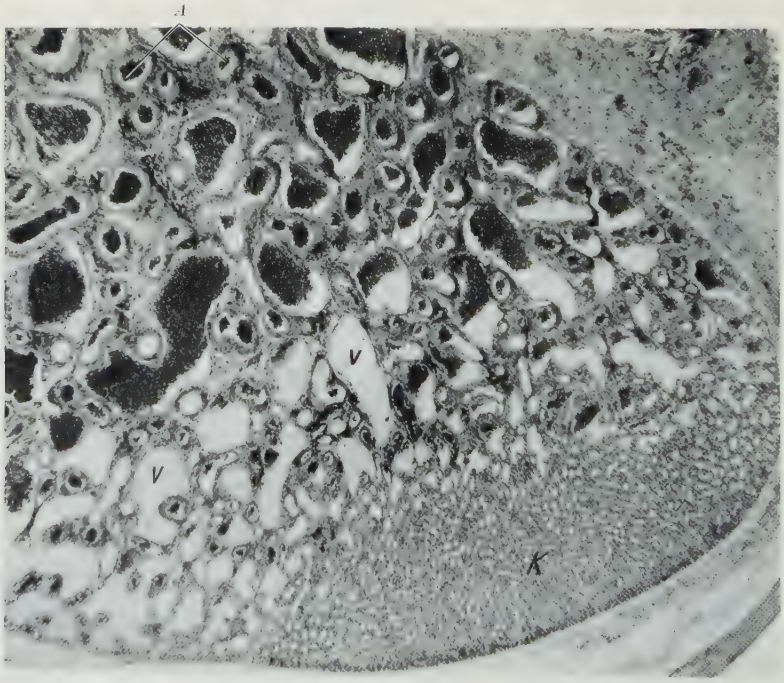

Abb. 25. Querschnitt durch den Roten Körper, etwas weiter caudal als bei Abb. 24. Linke obere Ecke: große Gefäße, *A* Arterien, *V* Venen, rechter unterer Rand: Kapillaren (*K*). Paraffinschnitt, 6 μ, Azan. Vergr. 31fach

Auch die Basalfläche des Epithels weist infolge größerer Einbuchtungen und Vorwölbungen unruhige Konturen auf. Streckenweise finden sich Anzeichen einer Membranvesiculation.

Das Cytoplasma der Epithelzellen ist, wie bemerkt, von geringer Dichte; es erscheint hellgrau mit sehr zarter, verwaschener Granulierung. Freie Ribosomen (Paladesche Granula) liegen überall im Cytoplasma verteilt. Wenig auffallend ist das endoplasmatische Reticulum. Es finden sich nur manchmal quergetroffene Kanäle mit angelagerten Ribosomen (Abb. 27). Ob die an der Zellbasis häufigen,

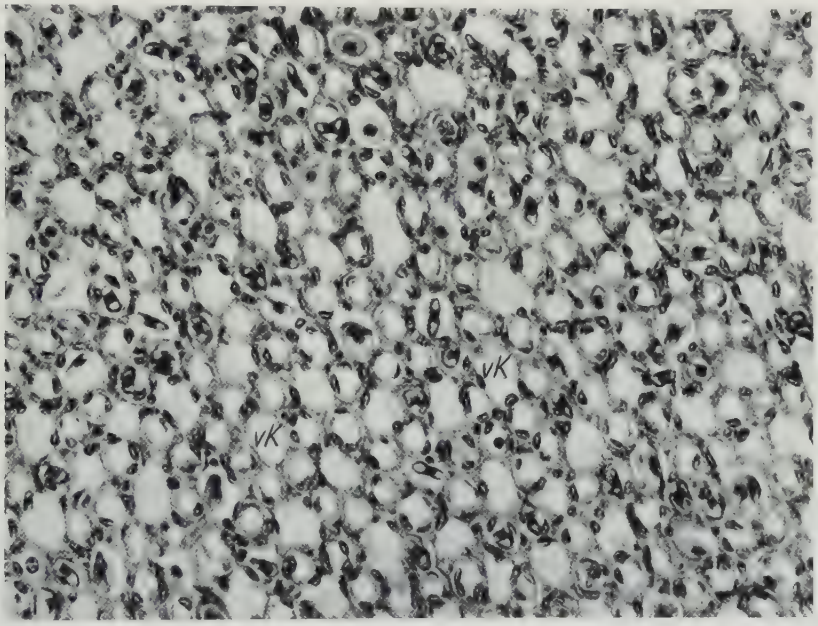

Abb. 26. Querschnitt durch die Kapillaren des Roten Körpers. Venöse Kapillare (*vK*) wird von arteriellen Kapillaren umgeben. Paraffinschnitt, 6 μ, Hämatoxylin-Eosin, Vergr. 520fach

blasig erscheinenden Gebilde von kreisrundem Querschnitt agranuläre Anteile des endoplasmatischen Reticulums darstellen, ließ sich nicht entscheiden.

Die Mitochondrien sind nicht sehr zahlreich; sie liegen zumeist unregelmäßig über die ganze Zelle verteilt. Nur in einem Falle finden sie sich in der Nähe des Kerns etwas dichter angeordnet. Offenbar bilden die Mitochondrien (Tubulustyp) dünne lange gewundene Fäden (Durchmesser 150 mμ).

Im Cytoplasma kommen zahlreiche, sehr verschiedenartig strukturierte Einschlüsse vor. Man findet dunkle, einfach konturierte, homogen erscheinende rundliche Partikel, die möglicherweise Fetttropfen darstellen (Abb. 27, 28), weiterhin Einschlüsse mit Binnenstruktur in Form von konzentrisch geschichteten Lamellen.

Ein auffällige Erscheinung ist der Reichtum an „blasigen" oder vakuolig erscheinendenden Profilen vor allem in dem basalen Bereich der Epithelzellen. Es handelt sich vorwiegend um optisch leer erscheinende Blasen mit glatter einfacher Kontur (Abb. 30). Sie besitzen annähernd runden Querschnitt, sind aber

von sehr unterschiedlicher Größe; der Durchmesser der kleinsten ist mit etwa 100 mμ etwas kleiner als der Querdurchmesser der Mitochondrien. Diese kleinen

Abb. 27. „Helles" Schwimmblasenepithel mit Einsenkungen der Oberfläche an den Zellgrenzen, hier auch Cytodesmen (*C.D.*), *S.B.L.* Schwimmblasenlumen, *K* Kapillare, *E.R.* Endoplasmatisches Reticulum, *N.F.* Nervenfaser. Die Pfeile weisen auf Unterbrechungen der Zellmembran. Vergr. 3900fach

Blasen sind bei weitem in der Mehrzahl (Abb. 29 und 30). Weniger zahlreich sind größere Blasen. Es ist nicht zu entscheiden, ob etwa die größeren Vesiculae durch

Zusammenschluß kleinerer entstanden oder ob sich umgekehrt große zu kleineren durchschnüren können. Die Vesiculae liegen zumeist dicht bei dicht an der Zellbasis. Seltener erscheinen die kleinen Blasen kranzförmig (Abb. 28) oder perlschnurartig angeordnet (Abb. 29). Nur vereinzelt finden sie sich auch an anderen

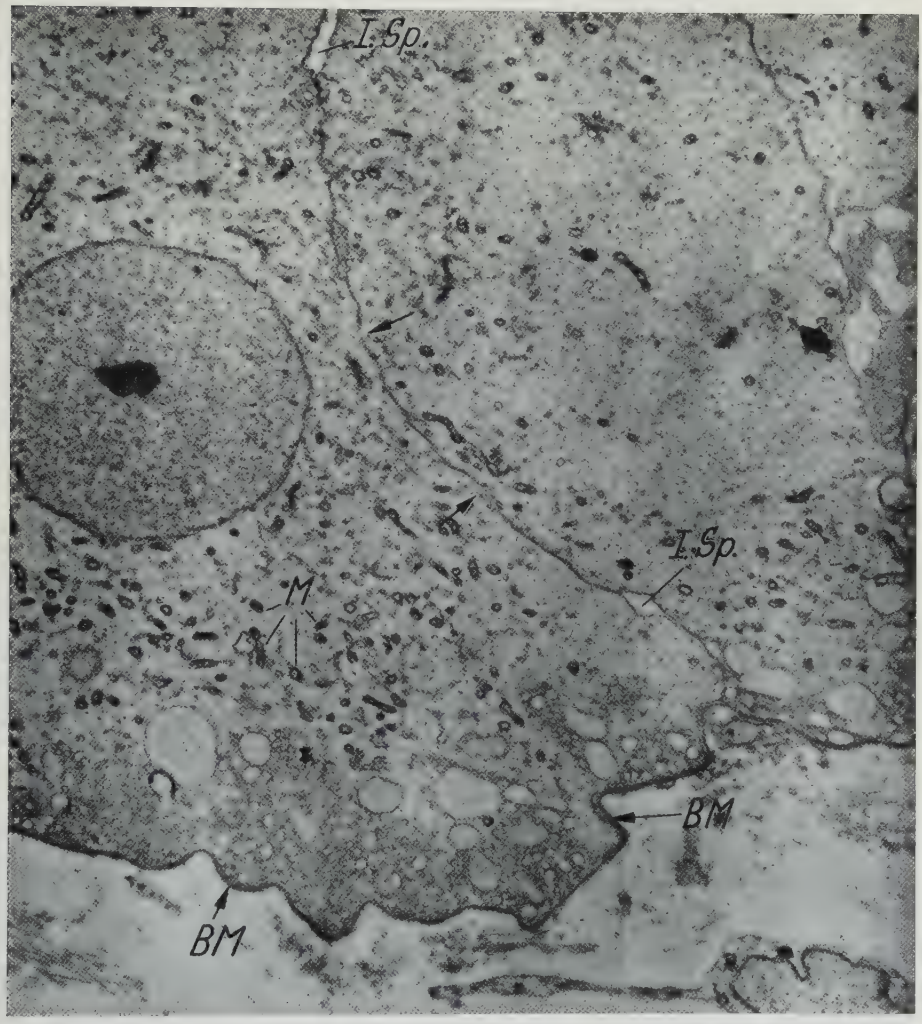

Abb. 28. Schwimmblasenepithelzellen, Blasen in der basalen Zellregion, links im Bild Zellkern, → Unterbrechungen der Zellmembran, *BM* Basalmembran, *M* Mitochondrien, *I.Sp.* interzellularer Spalt. Vergr. 5100fach

Stellen der Epithelzellen, z. B. nahe der freien Zelloberfläche. Stellenweise sind in der basalen Region der Epithelzellen Gruppen von großen, unregelmäßig geformten, einfach konturierten blasigen Säcken zu erkennen, die durch schmale Cytoplasmasepten voneinander getrennt sind. Die Bezirke zwischen den Säcken unterscheiden sich vom übrigen Cytoplasma dadurch, daß sie zahlreiche kleine Bläschen enthalten, wodurch sie geradezu schaumig wirken (Abb. 31). In den größeren Säcken läßt sich ein Inhalt ausmachen, der teils verwaschen granulär

erscheint, teils eher fädig. Häufig weichen die Zellgrenzen in dieser Region des Epithels auseinander; die so entstehenden Interzellularspalten sind von ähnlicher

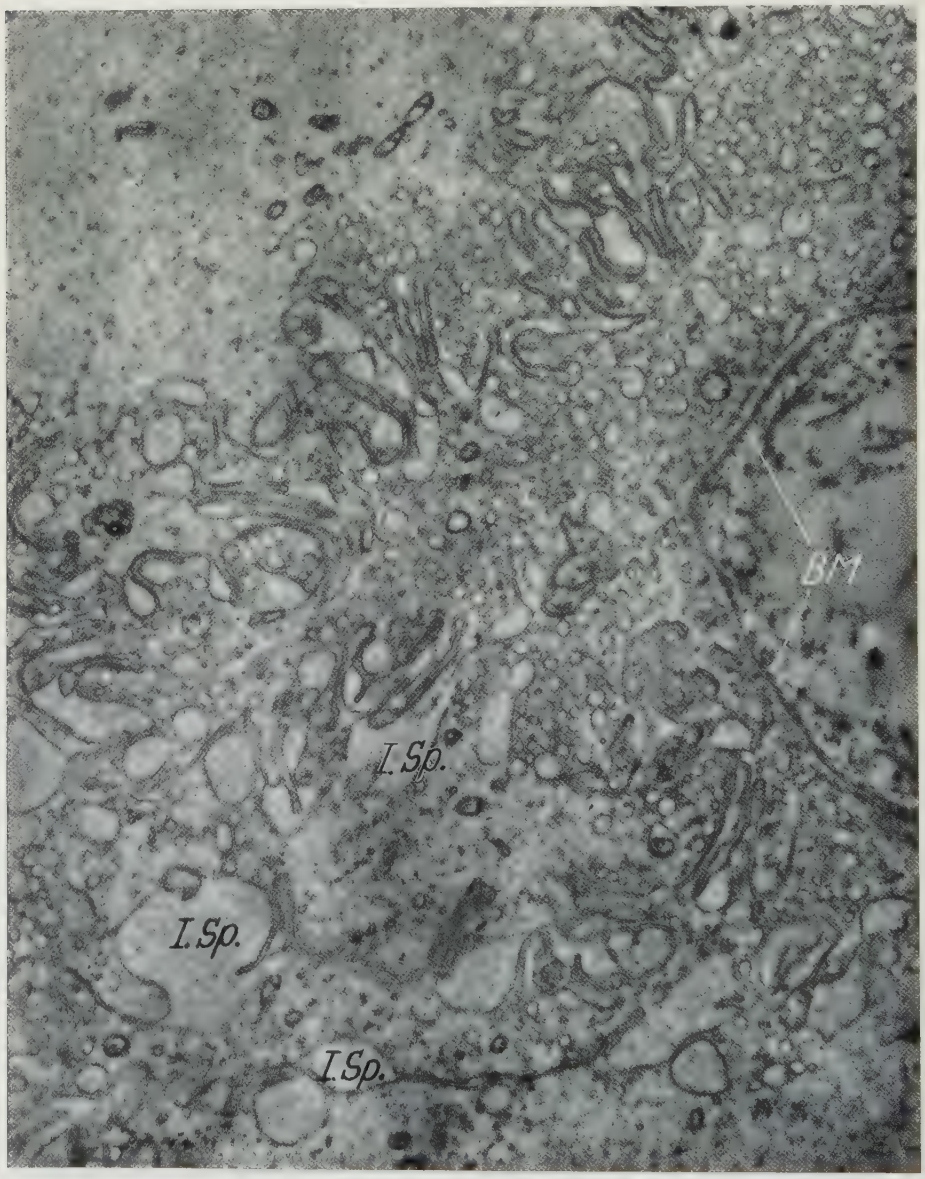

Abb. 29. Basale Region des hellen Schwimmblasenepithels, Verzahnungen der Zellmembran, erweiterte Interzellularspalten (*I.Sp.*), Blasen im Cytoplasma; *BM* Basalmembran. Vergr. 12 700fach

Form und Größe wie die Blasen im Cytoplasma. In einem Falle ließen sich am oberen Rand einer sehr großen unregelmäßig geformten Blase mehrere Doppelreihen von feinen abgeflachten Bläschen erkennen, die möglicherweise das Golgi-Feld darstellen.

Der Zellkern ist von rundlicher Form und glatter Oberfläche, ohne Faltungen und Einbuchtungen. Die Kernmembran erscheint als doppelte Kontur mit deut-

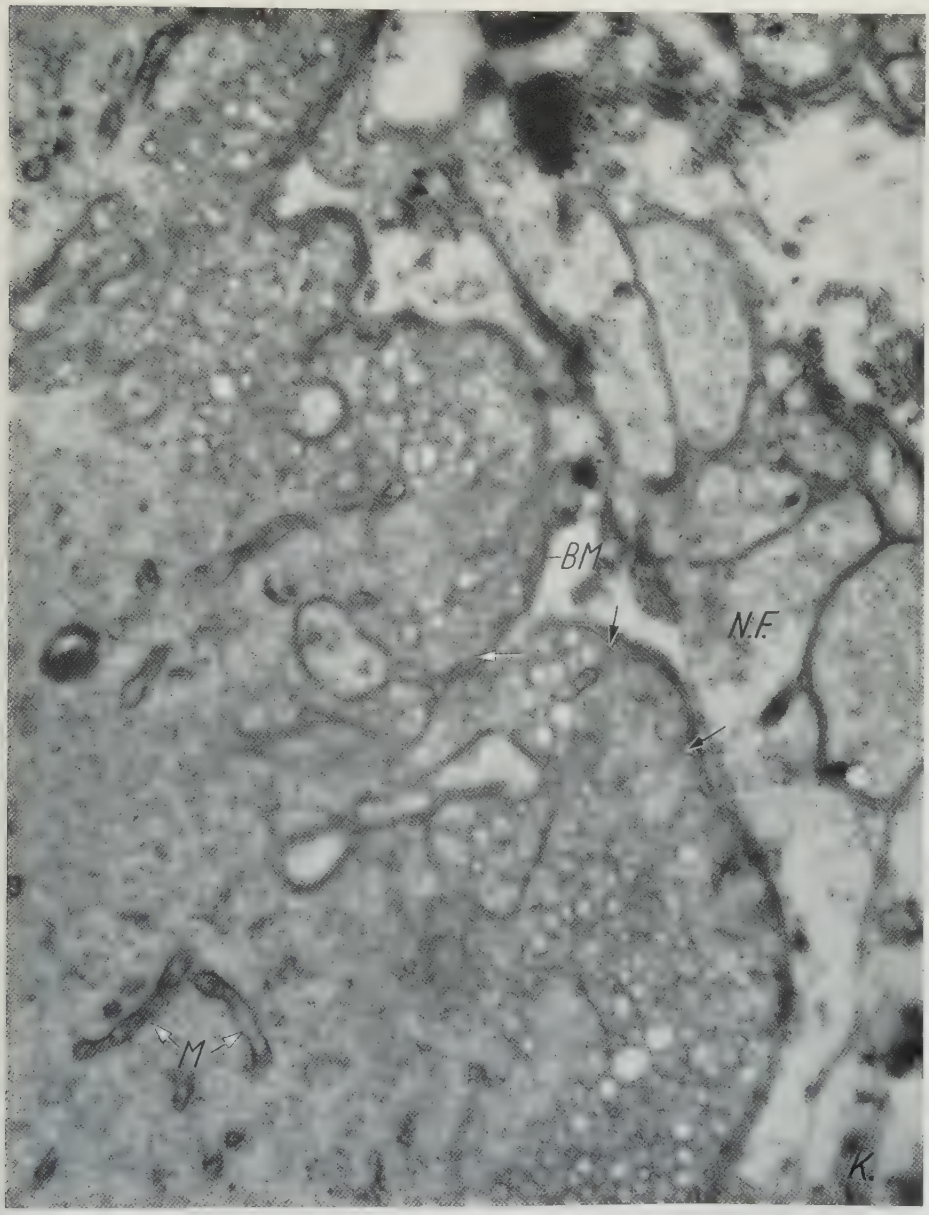

Abb. 30. Schwimmblasenepithel, Zellbasis mit Blasen im Cytoplasma, Einfaltungen der Zellmembran →. *M* Mitochondrien, *BM* Basalmembran, *N.F.* Nervenfaser, *K.* Kollagenfibrillen. Vergr. 24000fach

lich sichtbaren Kernporen; die circumnucleäre Cysterne ließ sich nur an wenigen Stellen erkennen. Das Karyoplasma ist gleichmäßig fein granuliert; der Kern wirkt im ganzen kaum dunkler als das Cytoplasma. Der Nucleolus fällt als zentral gelegener Bezirk von rundlicher bis ovaler Form und dichter Granulation auf.

Die Basis des Epithels grenzt an eine dünne Basalmembran, über die später berichtet wird (s. S. 879).

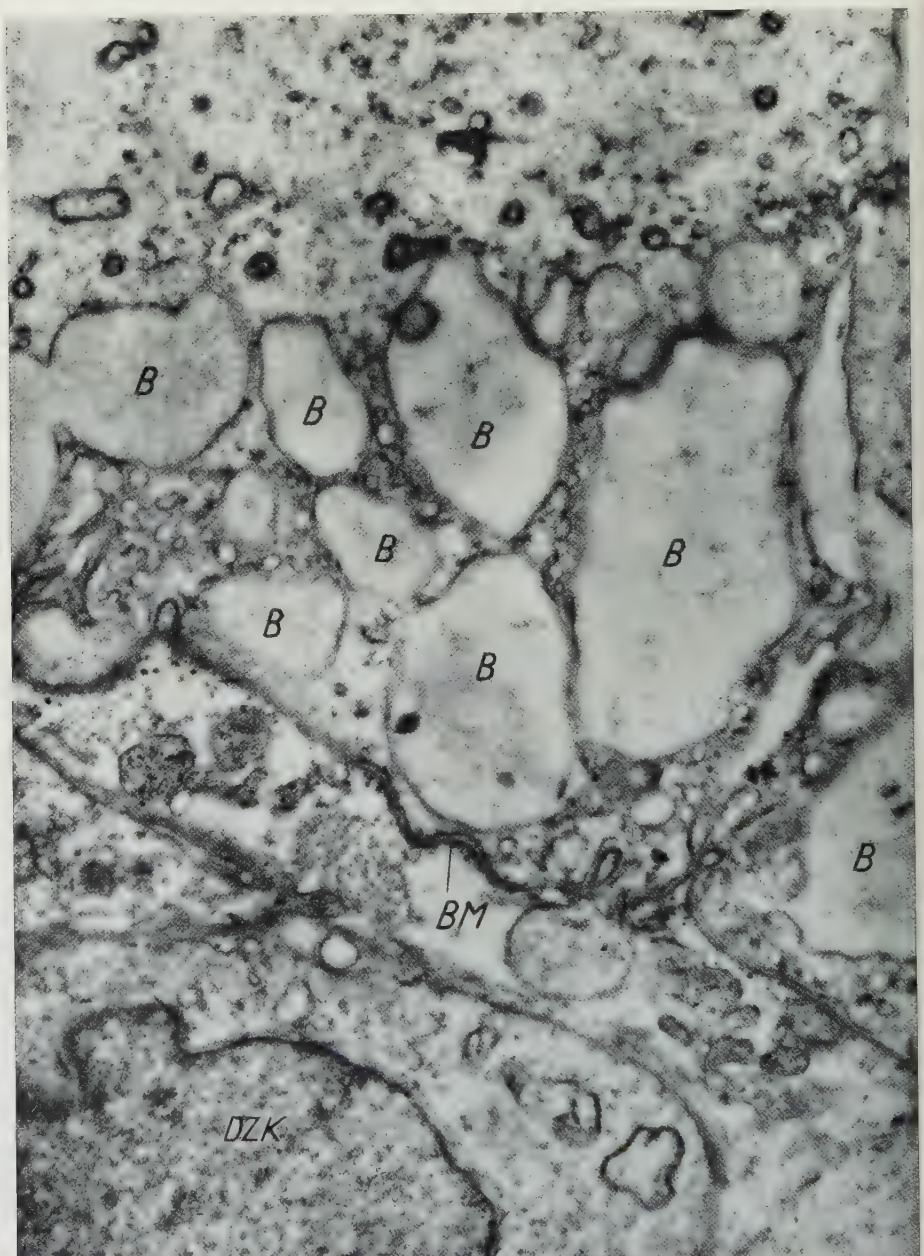

Abb. 31. Basalregion einer Schwimmblasenepithelzelle, große Blasen (*B*), *BM* Basalmembran, links unten Wand einer Kapillare, *DZK* Kern einer Kapillardeckzelle. Vergr. 13 800fach

b) „Dunkle" Epithelzellen. Neben den sehr hellen Epithelzellen finden sich erheblich dichter strukturierte, in den elektronenmikroskopischen Aufnahmen dunkler erscheinende Elemente. In Form und Größe unterscheiden sie sich nicht

von den hellen Epithelzellen; sie sind gleichfalls kubisch bis hochkubisch (Abb. 32). Unter ihnen lassen sich wiederum Elemente mit sehr fein granuliertem, fast homo-

Abb. 32. Schwimmblasenepithel mit dichtem Cytoplasma; in der rechten Bildhälfte Zellkern; zahlreiche Mitochondrienanschnitte, Einschlüsse →, dichte Einfaltungen der Zellmembran an der Epithelbasis, dieser angelagert in der Bildmitte eine tangential angeschnittene Kapillarschlinge (*K*); *SBL* Schwimmblasenlumen. Vergr. 8000fach

gen wirkendem Cytoplasma unterscheiden von solchen, deren Cytoplasma eine sehr viel gröbere Granulation enthält.

Die freie Zelloberfläche der „dunklen Zellen" trägt kurze Mikrovilli, die ins Schwimmblasenlumen hineinragen; zwischen ihnen liegen kryptenformige Einsenkungen, so daß die oberflächennahen Zellpartien bei entsprechender Schnitt-

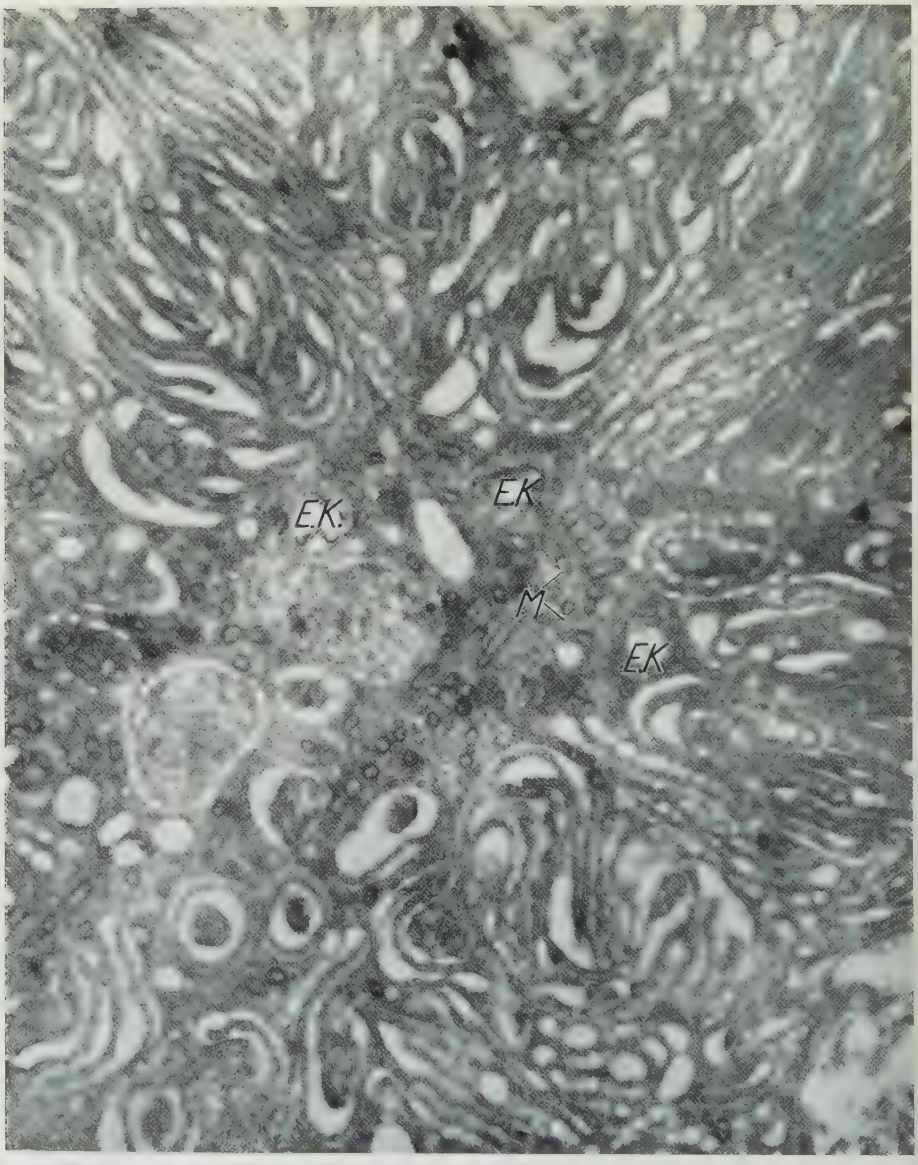

Abb. 33. Basis einer Schwimmblasenepithelzelle mit Einfaltungen der Zellmembran. *M* Mitochondrien *E.K.* Einschlüsse. Vergr. 14 500fach

führung vielfach von Vakuolen durchsetzt erscheinen. Die benachbarten Epithelzellen sind durch Verzahnungen miteinander verbunden, besonders in der Nähe der Epitheloberfläche. Unmittelbar unter dieser finden sich Cytodesmen. Die Zellen liegen so eng benachbart, daß ihre Grenzen oft schwer auszumachen sind,

da Plasmalemm und dichtes Cytoplasma nur geringfügig kontrastieren. Manchmal findet sich ein schmaler, streckenweise leicht erweiterter Interzellularspalt.

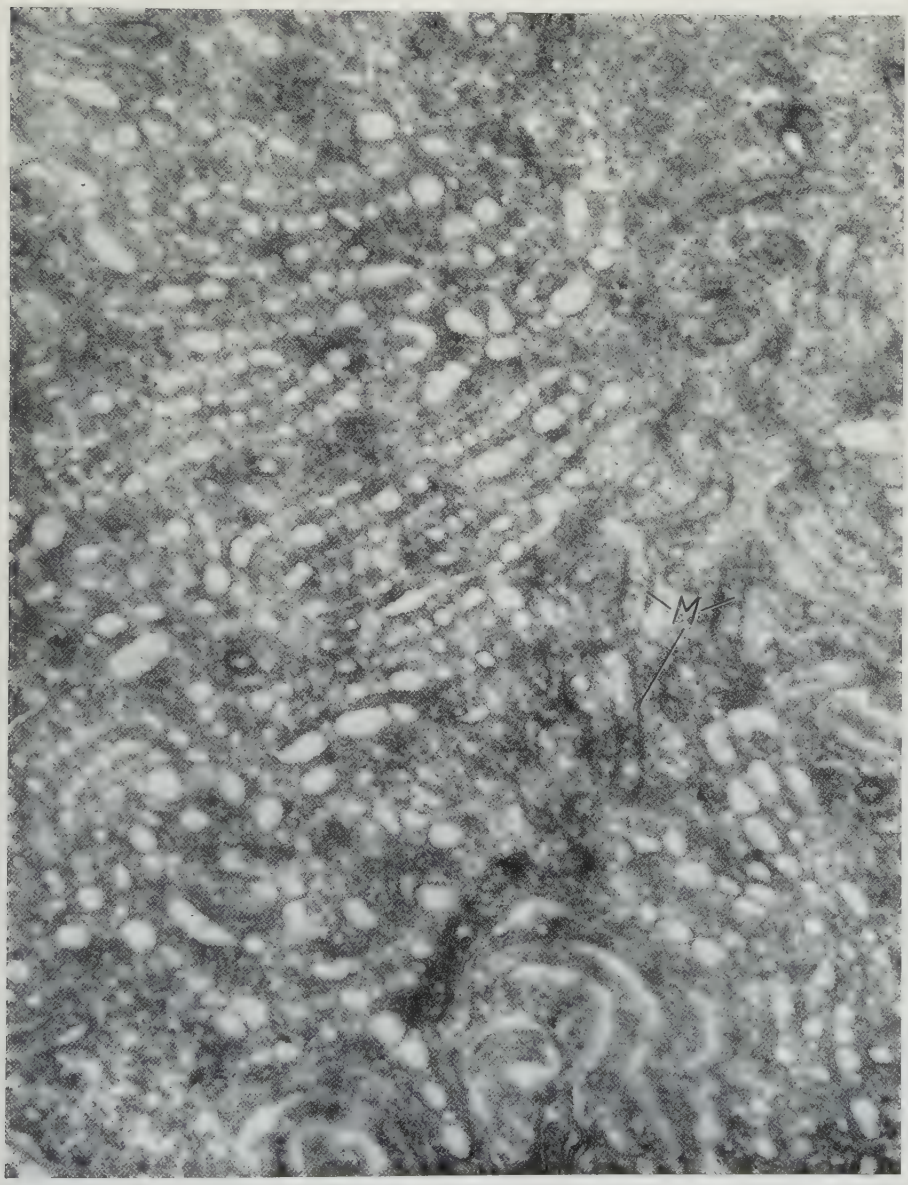

Abb. 34. Schwimmblasenepithelzelle, in Reihen angeordnete Vakuolen. *M* Mitochondrien. Vergr. 21 000fach

An der Epithelbasis weisen die Zellen sehr zahlreiche, dicht nebeneinander gelegene Einsenkungen auf, die tief einschneiden (Abb. 32, 37). Diese, ein *basales Labyrinth* bildenden Einfaltungen umfassen hell erscheinende Spalträume von sehr unterschiedlicher Form. Es können sich ganze Bündel paralleler Spalten,

deren Lumen annähernd gleichbleibt, senkrecht zur Epitheloberfläche in das Innere der Zelle hinein erstrecken. Die Bündel von Einsenkungen sind vielfach

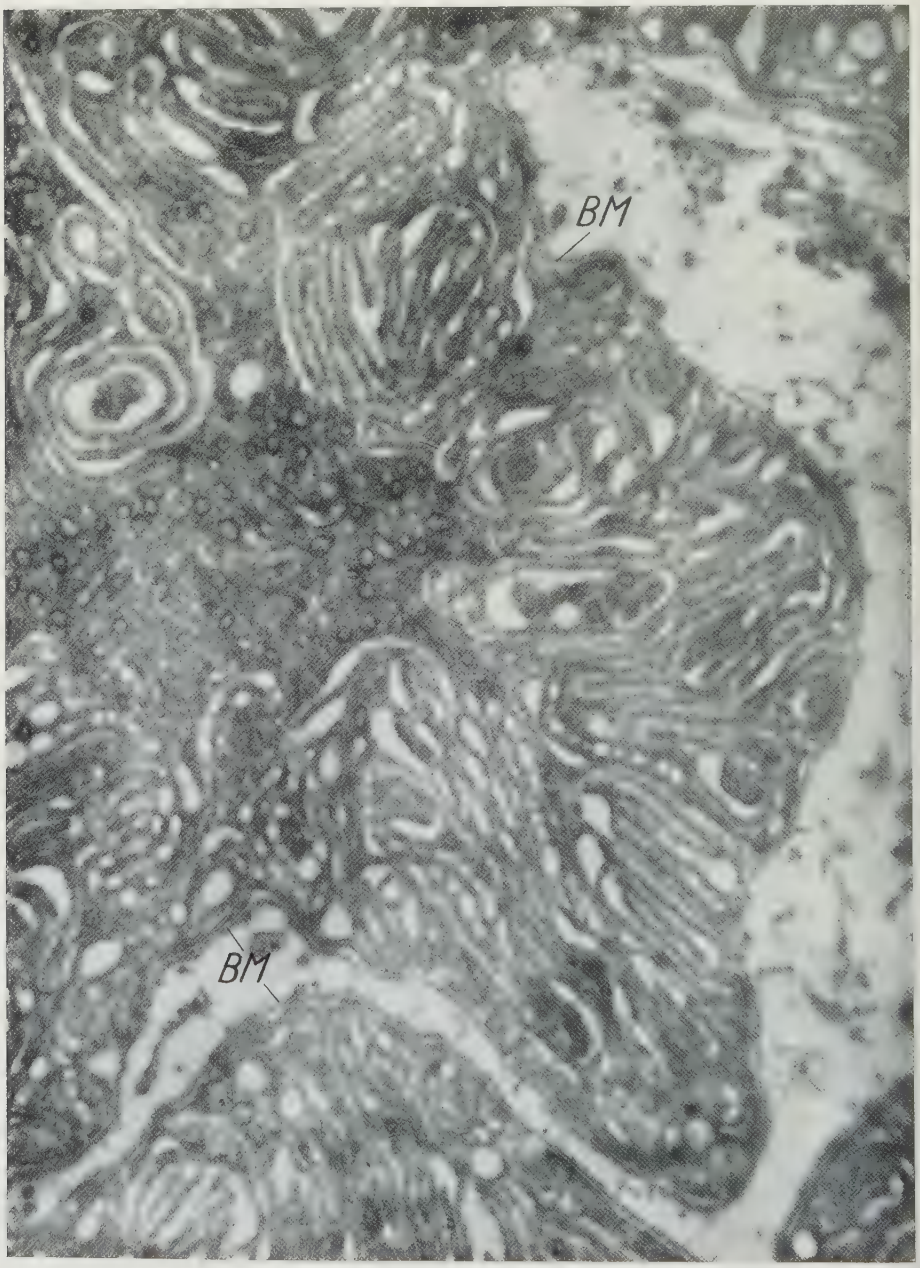

Abb. 35. Basale Region des Schwimmblasenepithels mit Einfaltungen der Zellmembran. *BM* Basalmembran. Vergr. 15 600fach

auch in den verschiedensten Richtungen gewunden, so daß ein Schnitt durch die Zellbasis mannigfache Strukturbilder zeigen kann (Abb. 33). Daneben

(Abb. 34) trifft man oft gewunden oder in Bogen verlaufende Reihen von rundlichen Erweiterungen, so daß an Perlschnüre erinnernde Formationen zustande kommen. Schnitte durch die von diesen Erweiterungen durchsetzten Zellpartien können wie Siebe mit parallel oder konzentrisch angebrachten Lochreihen aussehen. An anderen Stellen (Abb. 33) wiederum sind die Erweiterungen in Form eines geschlossenen Kranzes angeordnet. Man findet derartige rosenkranzartige Blasenreihen vereinzelt auch in höher gelegenen Zellabschnitten. Die Ausdehnung der Hohlräume ist keineswegs gleichmäßig; vielfach sind die Spalten auf ein Mehrfaches der ursprünglichen Breite erweitert. Man muß sich die Einsenkungen der Zelloberfläche einerseits vorstellen als röhrenförmige Hohlräume, die in Bündeln angeordnet sind; diese winden sich in den verschiedensten Richtungen derart, daß sie sich bald längsgetroffen als Parallelreihen von Spalten, bald quergetroffen als Parallelreihen von rundlichen Blasen, als gewundene Lochreihen oder auch als konzentrisch angeordnete kreisförmige Lochreihen darbieten. Daneben kommen spaltförmige Einsenkungen vor. Die Schnitte zeigen dann Bilder wie Abb. 33 und 35. Hier liegen längsgetroffene erweiterte Hohlräume neben solchen, die — nahe der Kuppel von Einstülpungen quergetroffen — als konzentrisch angeordnete kreisförmige Spalträume erscheinen; diese Spalträume wechseln mit ringförmigen Cytoplasmastreifen ab. Nur selten trifft man Mitochondrien in den von den Einfaltungen der Zellbasis begrenzten Fächern des Cytoplasmas.

Das Grundplasma der Epithelzellen ist überaus fein granuliert; es wirkt fast homogen. Ribosomen sind nicht festzustellen. Sehr zahlreiche, lange schmale Mitochondrien (Tubulus-Typ), die aufgewunden sind, finden sich über den ganzen Zelleib verteilt (Abb. 32); ihre Matrix weist die gleiche Dichte wie das Grundplasma auf. Ein endoplasmatisches Reticulum ist in den dichten dunklen Epithelzellen nirgends zu erkennen. Auch den Golgi-Apparat konnte ich an keiner Stelle ausmachen.

Welcher Natur die im Cytoplasma verteilten blasigen Strukturen verschiedener Größe sind, läßt sich nicht entscheiden. Es handelt sich um kleine runde (Durchmesser etwa 100—130 mμ), optisch leer erscheinende Blasen, die über die ganze Zelle verteilt vorkommen; etwas zahlreicher sind sie in der Nähe der freien Zelloberfläche (Abb. 32). Häufiger sind umfangreichere, blasige Gebilde mit einem Inhalt aus verwaschen konturierten granulaartigen Gebilden anzutreffen. In manchen Fällen handelt es sich zweifelsohne um Fett- oder Lipoideinschlüsse, durch deren partielle Lösung sehr verschiedenartige Schnittbilder des Blaseninhaltes entstehen. Manche größeren Blasen enthalten Fragmente von massendichten, konzentrisch geschichteten lamellenartigen Gebilden (Abb. 36).

Der Kern der dichten Epithelzellen ist ovoid oder kugelig, gelegentlich etwas eingebuchtet. Das Karyoplasma zeigt gröbere Granula mit größeren, weniger dichten Zwischenbezirken, so daß der Kern auf der Photographie im ganzen meist heller erscheint als das Cytoplasma. Die Nucleolarsubstanz ist als rundlicher, etwas wellig begrenzter Bezirk mit sehr feiner, dichter Granulation innerhalb des Kernraumes auszumachen.

c) Die Basalmembran begleitet die Basis des Epithels überall als dunkles, im Schnittbild kontrastreiches Band von etwa 40 mμ Breite, von dem Epithel durch eine helle Zone getrennt, die je nach Schnittrichtung bald kaum sichtbar ist, bald schmäler als die dunkle Schicht, bald ebenso breit wie diese erscheint.

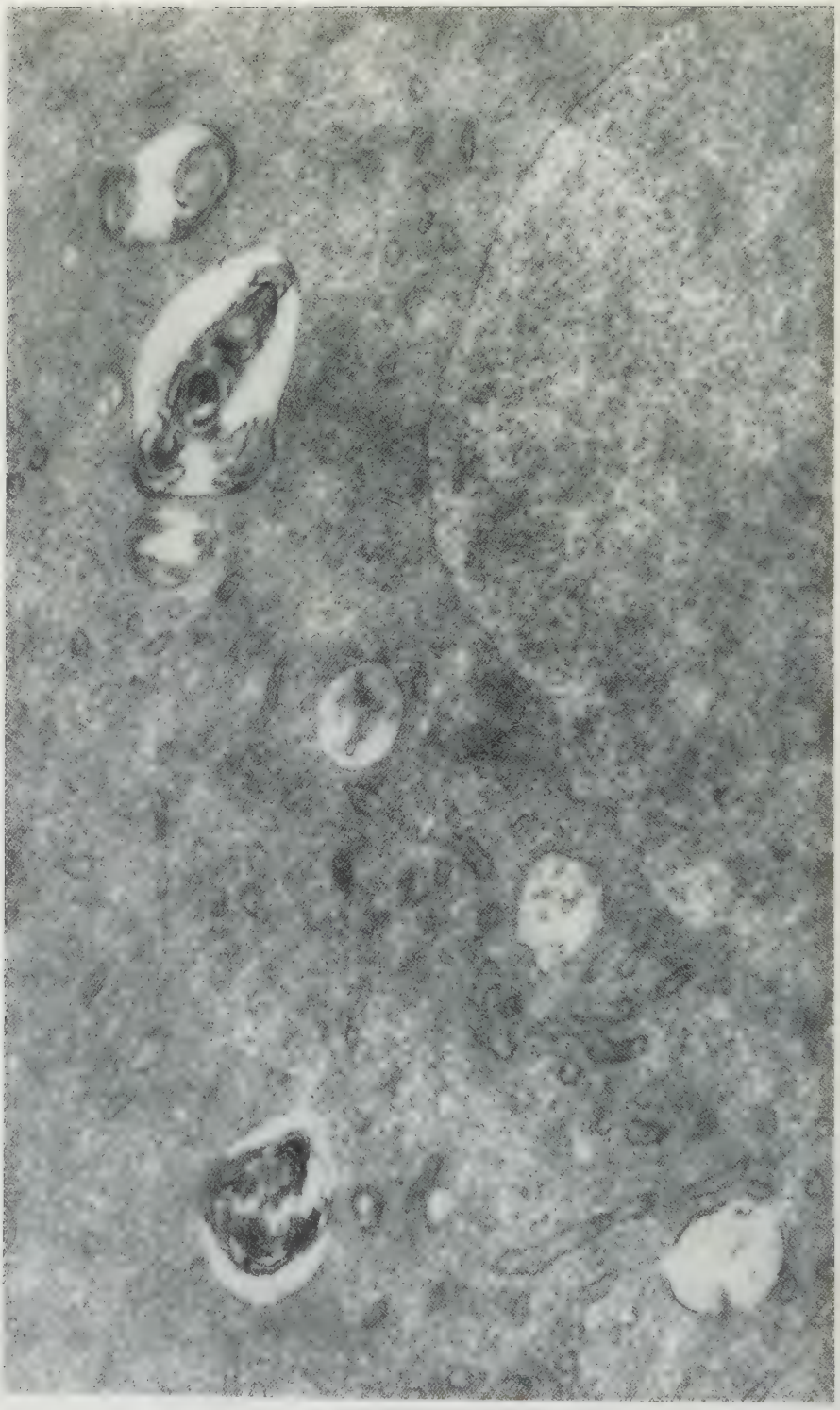

Abb. 36. Einschlußkörper im Cytoplasma des „dunklen" Schwimmblasenepithels mit granuliertem und lamellenartig geschichtetem Inhalt. Auf der rechten Seite der Abbildung Zellkern. Vergr. 23000fach

An die vom Epithel abgewandte Seite der Basalmembran schließt sich ein Bezirk von stark wechselnder Breite an, der das Epithel von den unterlagernden Kapillaren trennt. Dieser Raum kann verschwindend schmal sein, so daß die

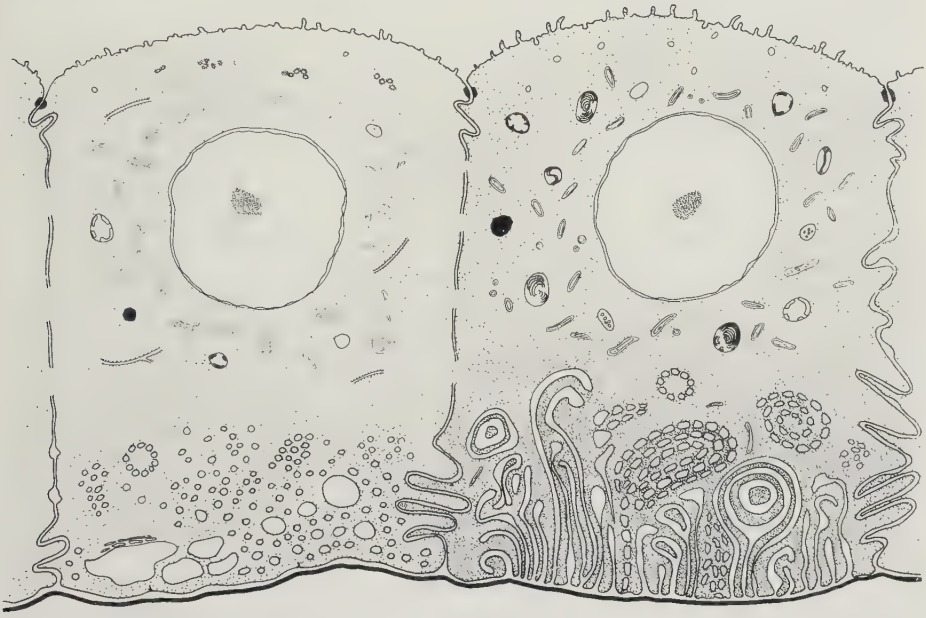

Abb. 37. Schematische Darstellung des submikroskopischen Baues der Epithelzellen in der Schwimmblase des Aals. Links „helle", rechts „dunkle" Epithelzelle. Näheres im Text

Kapillarwand der Basalmembran unmittelbar anliegt. An anderen Stellen ist er entweder von verwaschen gekörntem elektronendichtem Material erfüllt oder von sehr deutlich an ihrer Querstreifung erkennbaren Bündeln von Kollagenfibrillen,

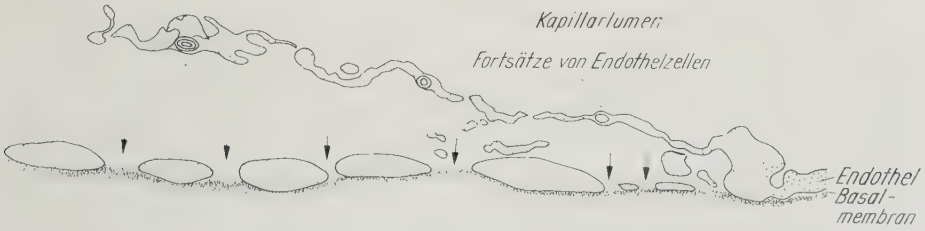

Abb. 38. Ausschnitt aus der Wand einer Kapillare unter dem „hellen" Schwimmblasenepithel. Im Kapillarlumen Anschnitte von Endothelzellfortsätzen; im Endothel Lücken →. Zeichnung nach elektronenmikroskopischen Aufnahmen

die ihn in verschiedener Richtung — oft aber parallel zum Verlauf der Kapillaren — durchsetzen. Nicht selten werden in diesem Spaltraum auch noch andere Gewebselemente gefunden, so z. B. Nervenfasern, die sich der Epithelbasis oft sehr eng anschmiegen.

d) Die Kapillaren des Schwimmblasenepithels. Die unter dem Schwimmblasenepithel gelegenen Kapillaren lassen den bekannten Aufbau aus Endothelrohr, Basalmembran und Kapillardeckzellen (Adventitialzellen) erkennen.

α) Endothel. Die meist sehr flachen Endothelzellen sind ein- oder mehrfach miteinander verzahnt und an der Verzahnungsstelle besonders stark abgeflacht; hier ragen oft hakenförmige Zellfortsätze in das Kapillarlumen hinein. Häufig zeigen die Zellmembranen an diesen Stellen Cytodesmen. Mitunter grenzen nicht nur zwei Zellen aneinander, sondern mehrere, die dann mit ihren Fortsätzen einander überlagern. An anderen Stellen sind die Endothelzellen derart gefenstert, daß die einzige durchlaufende Begrenzung des Kapillarrohres durch die Basalmembran gebildet wird (Abb. 38). Die Lücken haben Durchmesser von 200 bis 700 mμ. Die freie Oberfläche der Endothelzellen trägt stellenweise, so besonders an den Zellgrenzen, fingerförmige gebogene Fortsätze (s. oben), ferner recht ausgedehnte, lappige oder zottenförmige, offenbar auch verzweigte und gewundene Ausläufer, die auf größere Strecken ins Lumen hineinragen und dann im Schnittpräparat als scheinbar isolierte Gebilde angetroffen werden (Abb. 38).

An der Basis der Endothelzellen erkennt man häufig rundliche Einsenkungen, an manchen Stellen auch Bläschen, die anscheinend in Abschnürung begriffen sind, eine Erscheinung, die unter der Bezeichnung Membranvesiculation beschrieben wurde.

Das Cytoplasma der Endothelzellen ist zum großen Teil durchsetzt von rundlichen Bläschen, deren Durchmesser durchschnittlich 100 mμ beträgt. Ein Inhalt läßt sich in ihnen nicht ausmachen. Stets angetroffen werden relativ große Mitochondrien (Durchmesser 180—200 mμ) vom Tubulus-Typ; sie sind jedoch nicht sehr zahlreich. Teile des endoplasmatischen Reticulums mit einem Ribosomenbesatz sind immer zu sehen. Seine Profile liegen oft — gleichsam aufgereiht — in der Mitte der Endothelzellen. Die Kanäle erstrecken sich vorzugsweise parallel zur Längsachse der Kapillaren bzw. der Endothelzellen. Stellenweise erscheint das Hohlraumsystem des endoplasmatischen Reticulums sehr stark erweitert. Hier finden sich kreisrunde Durchschnitte von Hohlräumen, deren einfach konturierte Wand dicht und regelmäßig mit Ribosomen besetzt ist. Der Golgi-Apparat zeigt sich als Stapel abgeplatteter Säcke.

Zahlreich und verschiedenartig strukturiert sind die Einschlüsse in den Endothelzellen: In vielen Zellen finden sich in Kernnähe rundliche, glatt konturierte Partikel (Durchmesser 200—250 mμ), die homogen erscheinen; sehr wahrscheinlich handelt es sich um Fetttröpfchen. Ferner kommen optisch leer erscheinende Blasen vor. In anderen Fällen lassen sich große rundliche Vakuolen (Durchmesser etwa 550 mμ) feststellen, in denen locker verteilt unscharf konturierte, graue Granula (etwa 35 mμ Durchmesser) liegen. Große Vakuolen mit leicht welliger, einfacher Umrandung (Durchmesser bis etwa 900 mμ) enthalten eine unscharf konturierte grauwolkig erscheinende Substanz. Man kann annehmen, daß es sich in den erwähnten Fällen um Zustandsbilder verschiedener Phasen der Herauslösung von Fettsubstanzen handelt. Am auffallendsten sind umfangreiche Einschlüsse (Durchmesser 500—520 mμ) aus konzentrisch angeordneten massendichten Schichten.

Der kernhaltige Abschnitt der Endothelzellen wölbt sich stark in das Kapillarlumen vor. Der Zellkern besitzt stets gelappte Form (Abb. 27). Kernmembran und Kernporen sind deutlich zu erkennen. Stellenweise läßt sich die circumnucleäre Cysterne als feiner Spalt beobachten. Deutlich ist der Nucleolus als Bezirk mit dichter, grober, dunkler Granulierung zu sehen.

Zwischen den Endothelzellen der Kapillaren, die unter „dunklen" Epithelzellen und jenen, die unter „hellen" Epithelelementen liegen, besteht nach meinen Beobachtungen insofern ein Unterschied, als das Endothelcytoplasma im ersteren Falle in stärkerem Maße von Bläschen durchsetzt ist. Auch läßt sich hier das endoplasmatische Reticulum mit seinen Ribosomen in der Regel über längere Strecken hin verfolgen.

β) Die Basalmembran. Die Außenfläche des Endothelrohres wird von einer etwa 70—100 mμ dicken Basalmembran umgeben, an der man stellenweise einen

Abb. 39. Epithel des Ductus pneumaticus mit anliegender Kapillare. Schematisierte Zeichnung nach elektronenmikroskopischer Aufnahme; eng punktiert; Epithel, weit punktiert: Endothel, schraffiert: Deckzellen

dreischichtigen Aufbau erkennt: Eine mittlere, elektronendichte, dunklere Schicht (von 30—35 mμ Breite) wird von zwei weniger dichten, heller erscheinenden Schichten (von je etwa 30 mμ Dicke) eingefaßt. Meistens aber erscheint die Basalmembran im Schnitt als verwaschen strukturierter grauer Streifen. Besonders gut ist sie an den Stellen zu erkennen, an denen Fenster im Endothel ausgespart sind.

γ) Die Kapillardeckzellen. Die Deckzellen (Adventitialzellen) bilden keinen geschlossenen Überzug der Kapillaren, d. h. ihre Ausläufer lassen große Strecken der Basalmembran frei. Wo sie aber der Kapillare anliegen, schmiegen sie sich dem Grundhäutchen flächenhaft dicht an. Sehr kleinkalibrige Kapillaren werden enger und vollständiger umfaßt als weiterlumige. Mitochondrien und endoplasmatisches Reticulum der Adventitialzellen entsprechen denen der Endothelzellen. Das Cytoplasma ist von annähernd der gleichen Dichte wie das der Endothelzellen; es enthält Bläschen in entsprechender Anzahl und Verteilung. Membranvesiculation ist gleichfalls festzustellen.

2. Ductus pneumaticus. *a) Epithel.* Der Ductus pneumaticus wird von einem Belag aus sehr flachen Zellen ausgekleidet (Abb. 39, 40), die stark miteinander verzahnt sind. Aus der freien Zelloberfläche ragen zahlreiche fingerförmige Fortsätze von etwa 250 mμ und 60 mμ Breite empor (Abb. 40). Die meisten dieser Fortsätze scheinen unverzweigt zu sein; oft sind sie etwas gebogen. Die Zelloberfläche zwischen den Fortsätzen erscheint häufig kryptenartig eingesenkt.

Die Basalfläche der Epithelzellen ist verschieden stark gewellt, je nach dem Grad der Dehnung des Epithels, der mit dem Füllungszustand des Ductus wechselt. Bei stärker gedehntem Epithel verläuft die Zelloberfläche der niedrigen Epithel-

Abb. 40. Epithel des Ductus pneumaticus mit anliegender Kapillare. Links oben Lumen des Ductus (*D.L.*), rechts unten Lumen der Kapillare (*K*). Epithel mit Mikrovilli (*M.v.*), Cytodesmen (*C.d.*), Mitochondrien (*Mit.*). *BM* Basalmembran des Epithels. *E.Z.* Endothelzelle, *D.Z.* Kapillardeckzelle, *E.R.* Endoplasmatisches Reticulum der Deckzelle. Vergr. 9300fach

elemente in flachen Wellen (Abb. 40). An Stellen geringerer Dehnung des Epithels, offenbar auch im Bereich des Perikaryons, ist die Zelle mit zahlreichen Fortsätzen in das darunterliegende Gewebe eingesenkt. Mitunter weichen die Zellen zu

Interzellularspalten auseinander. Das Cytoplasma der Ductus-Epithelzellen zeigt stellenweise eine verwaschene Granulation. Nur vereinzelt sind freie Ribosomen zu erkennen.

In den meisten Epithelzellen finden sich rundliche „Bläschen" mit glatter Kontur, in Einzelfällen in größerer Menge. Von den recht zahlreichen Querschnitten des endoplasmatischen Reticulums unterscheiden sich die Profile dieser Bläschen durch ihre Größe (Durchmesser etwa 100 mμ) und durch ihre glatte Begrenzung. Das endoplasmatische Reticulum (Ribosomen) scheint hauptsächlich parallel zur Längsrichtung der Zelle orientiert zu sein. Die Mitochondrien sind nicht sehr zahlreich; sie gehören anscheinend dem Tubulus-Typ an.

Der Golgi-Apparat besteht aus parallelen Doppelmembranen, die im Quer- oder Schrägschnitt als bläschenförmige Profile erscheinen. Vakuolenartig erscheinende Einschlüsse mit verwaschener Umrandung enthalten undeutlich konturierte Granula von geringer Massendichte.

Der kernhaltige Abschnitt der Epithelzellen wölbt sich meist basalwärts vor. Der Kern der Epithelzellen ist oft länglich, gelegentlich rundlich, in den meisten Fällen aber gelappt geformt. Er erscheint dichter und gleichmäßiger granuliert als das Cytoplasma. Der Bezirk des Nucleolus ist feiner und dichter granuliert als das Karyoplasma.

Gegen das subepitheliale Gewebe sind die Epithelzellen überall durch eine kontinuierliche Basalmembran abgegrenzt. Man erkennt eine unmittelbar unter dem Plasmalemm gelegene 40—50 mμ breite, helle Schicht, der sich mit deutlicher Grenze eine dichtere Lage anschließt. Ihre Breite beträgt mehr als 50 mμ, läßt sich aber nur annäherungsweise angeben, da der distale Rand verwaschen erscheint.

Unter der Basalmembran liegt ein Bezirk von etwa 1—2 μ Breite, in dem zahlreiche Kollagenfasern auszumachen sind. An manchen Stellen wird in dieser Region auch elastisches Material angetroffen. Vereinzelte Anschnitte von Zellausläufern durchziehen diesen Raum. In wenigen Fällen sind Anschnitte von Nervenfasern und Muskelzellen zu erkennen. Unter diesem Bezirk liegen

b) die Kapillaren. Ihre äußerst dünne Wand zeigt den bekannten Aufbau aus Endothelrohr, Basalmembran und Adventitialzellen.

α) Endothel. Die Endothelzellen bilden ein geschlossenes Rohr von ziemlich gleichmäßiger Wandstärke. Ihre Dicke beträgt je nach dem Dehnungsgrad der Kapillare 0,5—1 μ; die Endothelzellen stark gedehnter Kapillaren können bis auf 150 mμ abgeflacht sein. Nur ihre kernhaltigen Partien wölben sich vor. Nirgends sind Lücken oder Poren im Endothelschlauch zu erkennen. Die freie, flach gewellte Endotheloberfläche trägt keine Fortsätze. Die Endothelzellen sind innig miteinander verzahnt; stellenweise kommt es auch zur Überlappung der Zellränder. Oft ragt im Bereich der Zellgrenze ein größerer Fortsatz in die Kapillarlichtung hinein. An den Verzahnungsstellen liegen Desmosomen, und zwar regelmäßig unmittelbar unter der Endotheloberfläche.

Die Basis des Endothels mäßig gedehnter Gefäße ist im allgemeinen fein gewellt, bei stark gedehnten ist sie fast plan. Gelegentlich ist sie auf eine kurze Strecke weit leicht tropfenförmig basalwärts vorgewölbt. Zahlreich sind Einsenkungen der basalen Zelloberfläche in Form von gestielten Bläschen oder von Einbuchtungen. Bläschen von gleichem Durchmesser finden sich in großer Zahl

auch im Cytoplasma der Endothelzellen. Manche Zellen erscheinen gänzlich von glatt konturierten Bläschen annähernd gleichen Durchmessers (rund 100 mμ) durchsetzt; es ist anzunehmen, daß die Bläschen durch Membranvesiculation entstehen.

Die nicht sehr zahlreichen Mitochondrien (Tubulus-Typ) sind in der Regel im zentralen Zellbereich anzutreffen, meist mit ihrer Längsachse annähernd parallel zur Kapillarlängsachse orientiert.

Das endoplasmatische Reticulum ist wohlentwickelt, vor allem im Zentrum der Zelle. Oft erkennt man die Querschnitte seiner Kanälchen in einer Reihe parallel zum Kapillarumfang inmitten des Zelleibes. Die Profile des Golgi-Apparates bestehen aus parallelen Reihen kleiner, dichtgepackter glattkonturierter Bläschen von annähernd gleicher Größe. Freie Ribosomen finden sich nur vereinzelt in dem fast ganz von Vesiculae erfüllten Cytoplasma.

Gelegentlich stößt man auf glattkonturierte, rundliche Einschlüsse, die sehr dicht und fein granuliert sind bzw. homogen erscheinen. Vermutlich handelt es sich auch hier um Fetttröpfchen. Andere scharfkonturierte Einschlüsse, die an Blasen erinnern, dürften aufgequollene Mitochondrien verkörpern.

Die Form der Kerne der Endothelzellen hängt von dem Dehnungsgrad des Endothelrohres ab: in mäßig gedehnten Kapillaren sind sie mehr ovoid, in stark gedehnten sehr flach (Abb. 40). In stärker verengten Haargefäßen findet man stark gefaltete und mit tiefen Einbuchtungen versehene Endothelkerne. Kernporen sind stets sichtbar; die zirkumnucleäre Cysterne ist seltener eine kleine Strecke weit auszumachen. Deutlich setzt sich der Nucleolus ab. In einigen Fällen erscheinen seine Granula wie auf einem verschlungenen Band aufgereiht.

β) Die Basalmembran. Die Basalmembran der Kapillaren des Ductus pneumaticus (Dicke durchschnittlich 100 mμ) gliedert sich in drei Schichten, nämlich zwei dichtere Außenschichten und eine weniger dichte, hellere Mittelschicht. Vielfach erscheint der Bereich der Basalmembran auch verwaschen wolkig. Bisweilen sind in dem Grundhäutchen feine, fädige Strukturen zu erkennen, die sich in ihrer Längsrichtung parallel zum Kapillarumfang erstrecken. An den Stellen, an denen der Kapillare Deckzellen anliegen, spaltet sich die Basalmembran auf, um mit ihrer äußeren Lamelle die Deckzelle zu überziehen.

γ) Die Kapillardeckzellen sind stark abgeflachte Elemente; ihre Dicke entspricht etwa derjenigen der Endothelzellen. Sie schmiegen sich dem Kapillarrohr dicht an, bilden aber keinen geschlossenen Überzug, sondern lassen vielfach Lücken frei. Sie werden von der Basalmembran rings umschlossen. Ihre Zellmembran läßt in vielen Fällen Vesiculation erkennen. Das Cytoplasma ist von gleicher Dichte und Struktur wie jenes des Endothels und ebenso reich an Bläschen. Die großen, ovoid bis rundlich geformten Mitochondrien (Durchmesser 200 bis 230 mμ) besitzen eine ziemlich helle Matrix, die von Tubuli durchsetzt wird. Das endoplasmatische Reticulum ist relativ gut entwickelt. Auch der Golgi-Apparat ist zu erkennen.

Außer offensichtlich zum Golgi-Apparat gehörigen Vakuolen findet man in den Adventitialzellen auch einige große, glatt konturierte Blasen, die auf der Photographie optisch leer erscheinen. Vereinzelt trifft man rundliche osmiophile Einschlüsse mit glatter Umrandung. Der Zellabschnitt mancher Adventitialzellen, welcher der Basalmembran zugekehrt ist, enthält häufiger als andere Zellbezirke verwaschen oder wolkig erscheinendes Material, dessen Natur nicht bestimmt werden konnte.

Der meist abgeflachte Zellkern ist immer eingebuchtet oder gelappt, gelegentlich sogar stark zerklüftet. Durch Einbuchtungen der Kernoberfläche können bei entsprechender Schnittrichtung Kerneinschlüsse vorgetäuscht werden. Sehr gut ist die circumnucleäre Cysterne auszumachen. Der Bereich des Nucleolus hebt sich deutlich vom Karyoplasma ab. Zwei verschiedene Formen des Nucleolus lassen sich unterscheiden: Einmal erscheinen die dunklen Granula wie auf einem verschlungenem Band locker aufgereiht, in anderen Fällen sind mehrere, mit dunklen Granula erfüllt Bezirke innerhalb des Kerns zu erkennen. In diesem Falle ist nicht zu entscheiden, ob der Nucleolus sehr ausgedehnt und daher mehrfach angeschnitten ist, oder ob mehrere Nucleolen vorhanden sind.

3. Roter Körper. Der Rote Körper besteht aus dicht gepackten, parallel verlaufenden Kapillaren. Arterielles und venöses Kapillarnetz durchdringen einander, ohne sich jedoch durch Anastomosen miteinander zu verbinden. Vielmehr sind, wie unter anderem auch aus Injektionsversuchen mit verschieden gefärbten Massen bekannt ist, arterielle und venöse Kapillaren so angeordnet, daß eine venöse Kapillare stets von einem Kranz arterieller Kapillaren umgeben ist (Krogh 1919).

Das elektronenmikroskopische Bild läßt sogleich den Unterschied der beiden Kapillarformen erkennen. Abgesehen davon, daß — jedenfalls in der hier getroffenen Region (Abb. 41) — die venösen Kapillaren von etwas größerem Kaliber sind als die arteriellen, besteht ein deutlicher Unterschied zwischen beiden hinsichtlich des morphologischen Verhaltens ihrer Endothelzellen.

a) Die arteriellen Kapillaren werden von Endothelzellen ausgekleidet, deren Dicke nur geringfügig schwankt. Auf Querschnitten findet man das Kapillarrohr von 5—6 Zellen ausgekleidet, deren kernhaltiger Abschnitt sich etwas vorwölbt. An den Zellgrenzen sind stets Einbuchtungen des Endothelrohres zu erkennen. Die Zelloberfläche trägt keine Mikrovilli. An den Zellgrenzen sind immer Verzahnungen ausgebildet, die S-förmig oder noch stärker gewunden sein können und stets von Desmosomen begleitet werden. Nirgends sind Interzellularspalten zu sehen. An der Basis der Endothelzellen finden sich feine Einfaltungen, die gelegentlich den Eindruck eines extrazellulären Labyrinths erwecken, ferner Vesiculationen.

Das Cytoplasma erscheint hell und in besonders auffälliger Weise dicht und gleichmäßig von Bläschen durchsetzt. Infolgedessen wirkt es in seiner Gesamtheit schaumig oder schwammig strukturiert. Die Bläschen sind einfach konturiert von annähernd gleicher Größe (Durchmesser etwa 100 mμ); sie erscheinen optisch leer. Relativ große Mitochondrien vom Tubulustyp sind in geringerer Anzahl vorhanden; die Zahl ihrer Tubuli ist klein.

Das endoplasmatische Reticulum ist mit seinen deutlich hervortretenden Ribosomen im Zentrum der meisten Zellen gut zu erkennen; es scheint in seiner Längsausdehnung überwiegend parallel zum Kapillarumfang zu verlaufen. Der Golgi-Apparat ist in den meisten Endothelzellen sichtbar; man findet Parallelreihen von kleinen, dunkelkonturierten Bläschen und einigen großen Vakuolen. Freie Ribosomen sind im Cytoplasma nur in geringer Anzahl zu beobachten. Homogen erscheinende massendichte Einschlüsse sind selten.

Der Kern der Endothelzellen ist meist flach und stark gelappt. In der doppelt konturierten Kernmembran sind Kernporen sichtbar, die Nucleolarsubstanz erscheint als Bezirk dunkler dichter Granulation (Abb. 41).

Das Kaliber der arteriellen Kapillaren schwankt. Man findet relativ weitlumige Kapillaren mit abgeflachten Endothelzellen neben solchen, deren Lumen dadurch eingeengt wird, daß die Endothelzellen nach innen vorgewölbt sind.

Abb. 41. Querschnitt durch die Kapillaren des Roten Körpers. *a.K.* arterielle Kapillare, *v.K.* venöse Kapillare. In der mittleren Kapillare angeschnittene Erythrocyten. Im Endothel der venösen Kapillare Poren →. Vergr. 14 800fach

b) Die venösen Kapillaren fallen gegenüber den arteriellen durch ein weit unruhigeres Bild des Endothelreliefs auf. Die Endothelzellen sind ferner im ganzen erheblich flacher als die der arteriellen Kapillaren. An den flachsten Stellen ist

ein Cytoplasmabelag bei starker Vergrößerung noch eben sichtbar (Abb. 42). Die Dicke des Endothels beträgt hier rund 100 mμ. An einigen Stellen sind schmale Poren von 350—400 Å Weite im Endothelbelag ausgespart (Abb. 41). Der kern-

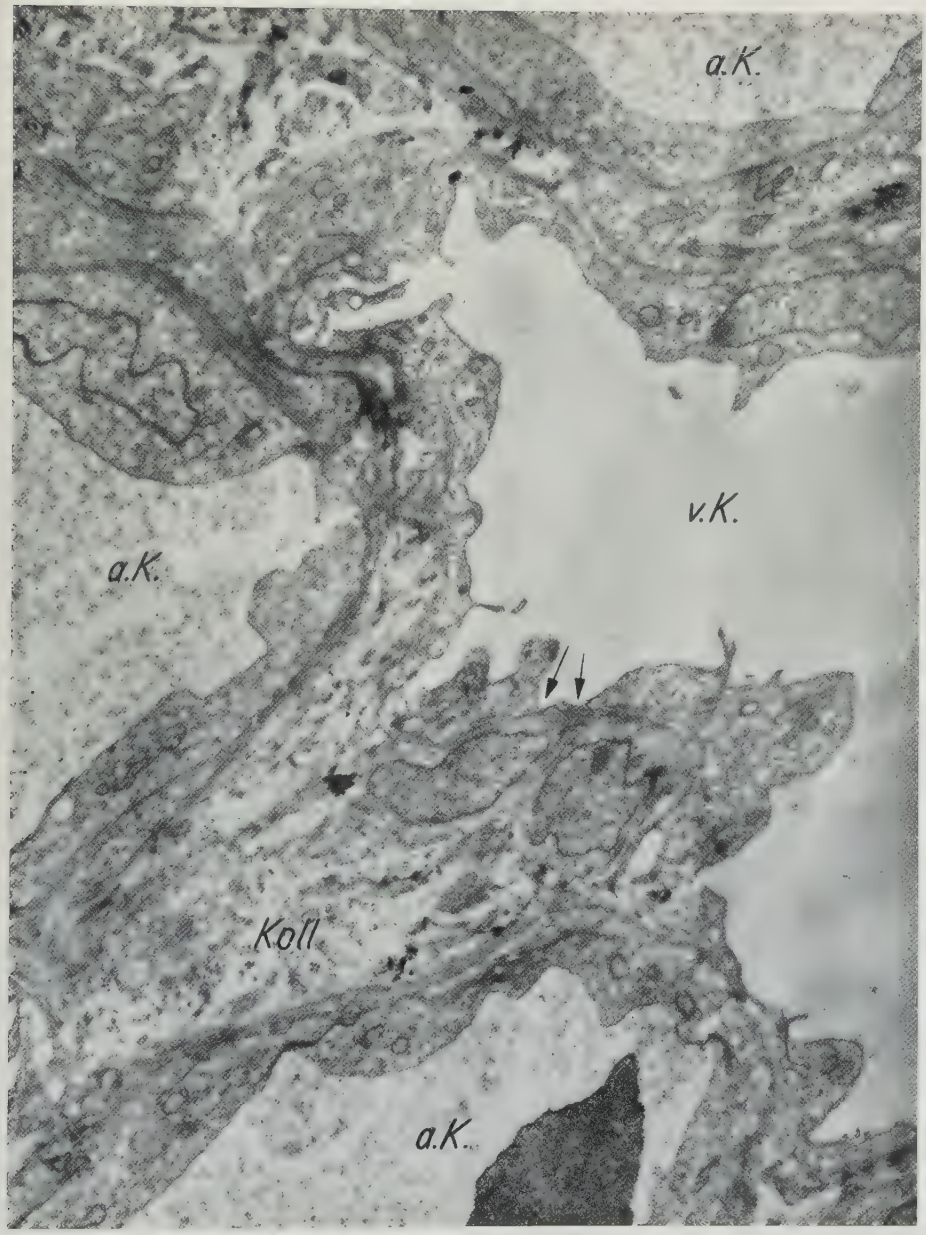

Abb. 42. Roter Körper, Querschnitt. *a.K.* Arterielle Kapillaren; *v.K.* venöse Kapillare mit stark abgeflachtem Endothel →; *Koll* Kollagenfibrillen. Vergr. 8000fach

haltige Bezirk buckelt sich oft halbkugelig ins Kapillarlumen vor. Die gewellte Zelloberfläche trägt keine Mikrovilli. Dagegen sind schlauch- oder trichterförmige Einsenkungen in der Zelloberfläche ausgebildet, die bei entsprechender Lage des

Schnittes das Vorhandensein von Vakuolen vortäuschen können (Abb. 43). Die Verzahnungen an den Zellgrenzen sind meist S-förmig, oft aber auch sehr viel komplizierter gestaltet. An den Verzahnungsstellen entsenden die aneinandergrenzenden Zellen je einen langen Fortsatz in die Lichtung der Kapillare hinein.

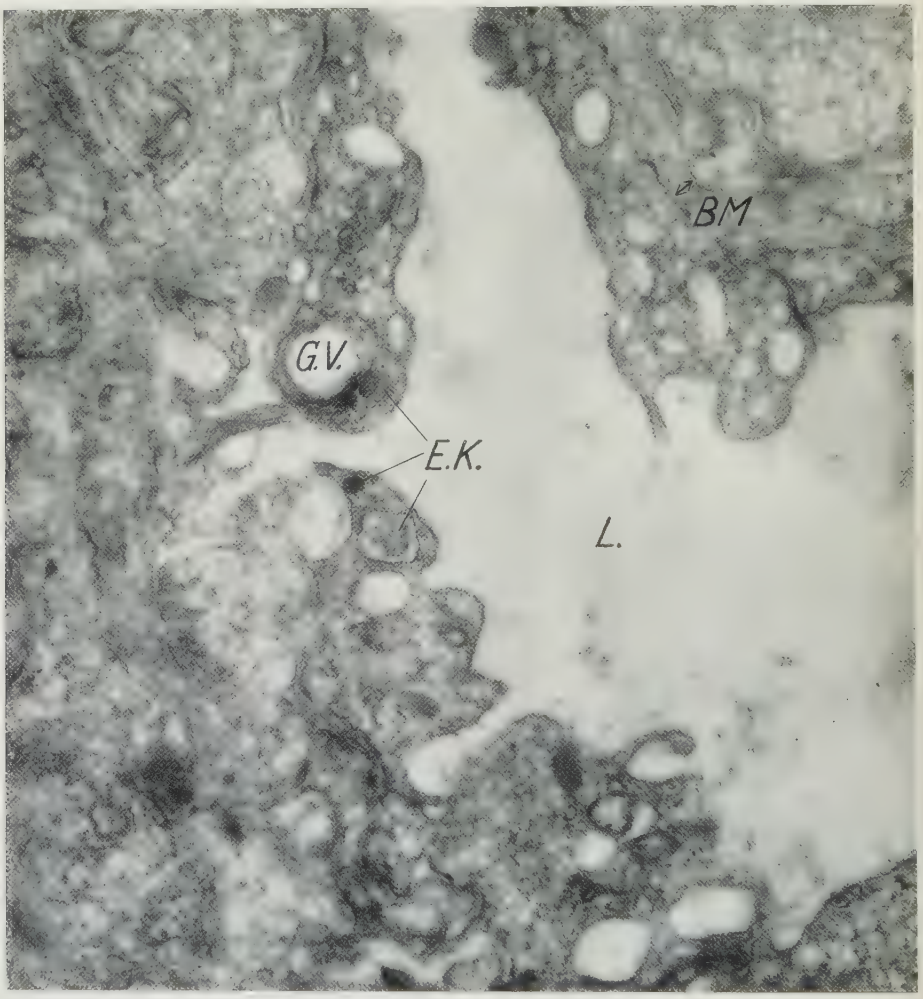

Abb. 43. Venöse Kapillare im Roten Körper. Im Cytoplasma der Endothelzellen Vakuolen, Einschlüsse (*E.K.*), Golgi-Apparat mit Vakuole (*G.V.*). *BM* Basalmembran; *L.* Kapillarlumen. Vergr. 24000fach

Auch die Basis der Zelle zeigt sehr zahlreiche Einfaltungen und Vesiculationen. Die Mitochondrien (Tubulus-Typ) sind nicht sehr zahlreich, aber ziemlich groß. Das endoplasmatische Reticulum ist in den meisten Endothelzellen sehr deutlich sichtbar. Der Golgi-Apparat ist durch parallele Lagen von Doppelmembranen und feinen Bläschen und mit diesen zusammenhängende große Vakuolen gekennzeichnet (Abb. 43). Das Cytoplasma der Endothelzellen enthält außerdem noch eine Reihe verschiedenartiger Zelleinschlüsse, unter ihnen ziemlich häufig vorkommende rundliche Gebilde mit einfacher glatter Kontur,

die homogen dunkel erscheinen, möglicherweise Tropfen von Fett oder Lipoiden. Andere Einschlüsse setzen sich aus scharf begrenzten rundlichen Korpuskeln zusammen. Ferner kommen große, mehr oder weniger rundliche, dunkel konturierte Vakuolen vor, die vereinzelte, verwaschen graue, rundliche Partikel enthalten. Im übrigen erscheint das Cytoplasma, ähnlich wie das der Endothelzellen in den arteriellen Kapillaren, mit hellen, einfach konturierten, fast gleichgroßen Bläschen (von etwa 100 mμ Durchmesser) dicht angefüllt.

Die Kerne der Endothelzellen der venösen Kapillaren sind weniger abgeplattet als jene des Endothels der arteriellen Kapillaren. Sie fallen durch sehr starke Lappung und Zerklüftung auf. Der Nucleolus tritt im Schnittbild als dunkler, dicht granulierter Bezirk hervor.

c) Die Kapillardeckzellen (Adventitialzellen). Die Kapillaren des Roten Körpers besitzen einen Belag von Deckzellen, welche die Basalmembran streckenweise frei lassen. Ihre zumeist sehr flachen Ausläufer legen sich mit ihrer gesamten Fläche der Kapillarwand an, während die kernhaltigen Abschnitte meist in den Zwickeln zwischen den Kapillaren liegen (Abb. 41).

Die Zellmembran läßt an manchen Stellen Membranvesiculationen erkennen. Das Cytoplasma der Adventitialzellen verhält sich hinsichtlich Dichte und Granulation sehr ähnlich wie das der Endothelzellen, enthält indessen nicht so zahlreiche Bläschen wie dieses. Die großen Mitochondrien gehören dem Tubulus-Typ an. Das endoplasmatische Reticulum ist stets gut erkennbar. Sehr auffallend ist der Golgi-Apparat, der sehr viel deutlicher ausgebildet ist und häufiger angetroffen wird als in den Endothelzellen. Er ist charakterisiert durch die bekannten Stapel abgeplatteter Säcke und Bläschen und durch große Vakuolen. Große, einfach begrenzte Vakuolen enthalten verwaschen konturierte Granula von unterschiedlicher Dichte. Osmiophile, homogen erscheinende Einschlüsse stellen wahrscheinlich Fett- oder Lipoidtropfen dar.

Die Zellkerne der Deckzellen füllen die in den interkapillären Zwickeln gelegenen Zellabschnitte meist fast ganz aus. Sie sind groß und glattrandig, von kantiger oder abgeflacht rundlicher Form. Die meisten Adventitialzellkerne unterscheiden sich von den Endothelzellkernen deutlich durch ihre viel dichtere, feinere und massendichtere Granulierung. An den Kernen der Deckzellen sind Kernporen immer sichtbar, der Nucleolus ist im Schnitt häufig anzutreffen. Die circumnucleäre Cysterne ist oft viel deutlicher als bei gleichzeitig getroffenen Endothelzellkernen.

d) Die Basalmembran, bei den arteriellen und venösen Kapillaren in gleicher Weise ausgebildet, läßt immer eine Dreischichtung erkennen. Eine dunkle Mittelschicht von 50—70 mμ Dicke wird von zwei hellen Außenschichten von je 30 bis 40 mμ Dicke eingefaßt. An vielen Stellen weichen die Schichten der Basalmembran auseinander; die mittlere Zone erscheint dann verbreitert und zeigt eine feine Streifung. Mitunter weitet sie sich auch zu einer breiten, verwaschen strukturierten Lage aus. An den Stellen, an denen Adventitialzellen dem Kapillarrohr anliegen, spaltet sich die Mittelschicht auf und umhüllt diese Zellen (Abb. 41). Dabei ist die der Kapillarwand zugekehrte Partie der Basalmembran stets dünner als die die gegenüberliegende Oberfläche der Deckzelle überziehende. So bietet das Verhalten der Basalmembran einen Anhaltspunkt, die Zugehörigkeit einer Deckzelle zu einem bestimmten Gefäß festzustellen.

Zwischen den Kapillaren, besonders in den Zwickeln, finden sich zahlreiche Kollagenfibrillen. Sie verlaufen meist parallel zur Längsachse der Kapillaren. Daneben findet sich verwaschen strukturierte Substanz, die als elastisches Material gedeutet wird. Außer vereinzelten marklosen Nervenfasern werden zwischen den Kapillaren keine weiteren Gewebselemente angetroffen.

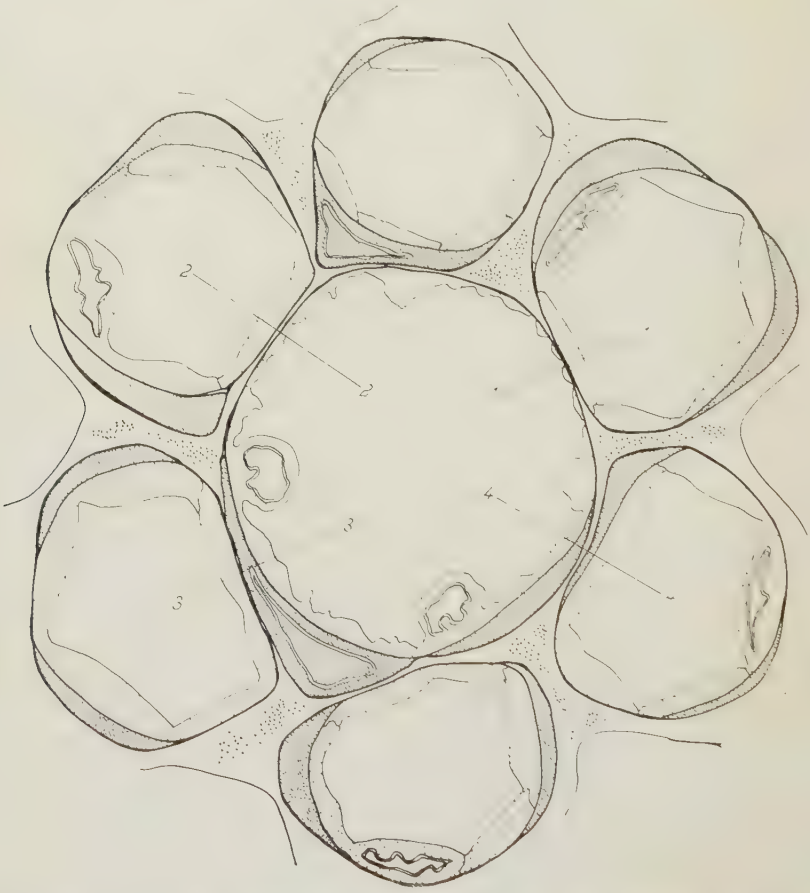

Abb. 44. Schema der Nachbarbeziehungen der Kapillaren des Roten Körpers; venöse Kapillare umgeben von arteriellen Kapillaren. Näheres im Text. Weit punktiert: Endothelzellen, eng punktiert: Deckzellen

Die Kapillaren grenzen mit ihren Wandungen aneinander und sind oft etwas gegeneinander abgeplattet, so daß im Schnittbild eine Wabenstruktur erscheint. Es bestehen folgende Möglichkeiten der Nachbarbeziehungen der Kapillaren zueinander (Abb. 44):

1. An Stellen, an denen Poren im Endothel der venösen Kapillaren ausgebildet sind und Deckzellenabschnitte fehlen, grenzt das venöse Blut an die Basalmembran der Kapillare und diese ihrerseits an die Basalmembran und das Endothel der arteriellen Kapillare (venöses Blut-Basalmembran-Basalmembran-Endothel).

2. An deckzellenfreien, porenlosen Wandabschnitten besteht die Barriere aus Endothel-Basalmembran-Basalmembran-Endothel.

3. Bei Zwischenlagerung einer Deckzelle ergibt sich die Schichtenfolge Endothel-Basalmembran-Deckzelle-Basalmembran-Endothel

4. Schließlich können aneinandergrenzen: Endothel-Basalmembran-Deckzelle-Basalmembran-Basalmembran-Deckzelle-Basalmembran-Endothel.

D. Diskussion

Die *lichtmikroskopische Untersuchung* der Schwimmblase des Aals hat eine Reihe neuer, bisher noch nicht beobachteter Strukturen aufgedeckt. Zunächst seien die am *Gefäßsystem* der Schwimmblase erhobenen Befunde besprochen.

Jacobs (1898) stellte erstmalig die Schwimmblasenkapillaren durch Gefäßinjektion dar. Seine Abbildung des Kapillarnetzes zeigt eine „garben- oder strahlenförmige Verzweigung" der Gefäße, die sich flächenhaft ausbreiten. Diese Abbildung entspricht der Abb. 6 der vorliegenden Untersuchung, auf der die Kapillaren im rostralen Bereich der Schwimmblase dargestellt werden. Die charakteristische Anordnung der Gefäße in den übrigen Regionen der Schwimmblase und vor allem auch die arkadenartigen Schlingen unter dem Epithel wurden offenbar nicht beobachtet, jedenfalls findet sich bei Jacobs keine Erwähnung und auch keine Abbildung.

Auch über die *Muskelarchitektonik der Schwimmblase* findet man keine einheitlichen Angaben. Während Pauly (1882) von einer inneren Ringmuskelschicht und einer äußeren Längsmuskelschicht spricht, gibt Jacobs (1898) an, die Aalschwimmblase enthalte nur Ringmuskeln, aber keine Längsmuskeln. Oppel (1905) dagegen berichtet, daß die Muskeln der Schwimmblase aus einer Ringmuskelschicht und einer außen aufgelagerten Schicht von Längsmuskeln bestehen, die nicht streng voneinander geschieden sind. Die Anordnung der Muskelschlingen in Form von *Scherengittern* wurde jedoch nicht beobachtet. Die Muskelarchitektonik mit inneren, mehr zirkulär verlaufenden, flachen Muskelspiralen und außen gelegenen, in steileren Touren angeordneten Längsmuskeln erklärt sich aus der Herkunft der Schwimmblase vom Darmtractus. Sie läßt sich am ehesten vergleichen mit derjenigen der Gallenblase bei Säugern und beim Menschen.

Bei vielen anderen Teleosteerschwimmblasen, die mit glatter Muskulatur ausgestattet sind, ist diese entweder sehr viel schwächer ausgebildet als in der Aalschwimmblase (Saupe 1939, Flußbarsch) oder nur auf eine bestimmte Region der Schwimmblasenwand beschränkt. Mit den Muskelfasern hängt das dichte Netz von elastischen Fasern eng zusammen. Sicherlich ist die lückenlose und durchgängig aus Ring- und Längsmuskelschicht bestehende Muscularis von Bedeutung für die Kontraktionen, welche die Aalschwimmblase ausführen kann (Fänge 1953). Durch die Muskulatur wird Luft in den Ductus pneumaticus gepreßt; dieser wird als zusätzliches Atmungsorgan angesehen.

An der *Muskulatur des Ductus pneumaticus* haben sich gleichfalls bisher noch nicht beobachtete Befunde erheben lassen. Oppel (1905) berichtet, daß im Luftgang unter der Bindegewebslage eine dicke Ringmuskelschicht liege. „Außerhalb dieser Ringmuskelschicht jedoch sieht man den Luftgang auf seinem Querschnitt in Abständen von wohldifferenzierten Längsmuskelbündeln umgeben, welche in ziemlich derben Bindegewebsscheiden liegen." Ob unter den „Längsmuskelbündeln" Oppels die Nerven zu verstehen sind und unter den „derben Bindegewebsscheiden" die Muskelmanschetten, welche die Nerven einhüllen, sei dahingestellt. Auffallend ist jedenfalls die starke Versorgung des Ductus pneumaticus

mit parallel zu seiner Längsachse ziehenden *Nerven*, die von großen *vegetativen Ganglien* ausgehen (s. auch Fänge und Mattison 1956). Bemerkenswert ist ferner die Anordnung der Längsmuskeln in Form von *Manschetten um die Nerven*. Nirgendwo anders ist meines Wissens bisher eine derartige Anordnung beobachtet worden. Die funktionelle Bedeutung dieser Bauweise könnte in einem Schutz der Nerven vor Dehnung oder Verlagerung bei den großen Volumenschwankungen bestehen, denen der Luftgang unterworfen ist.

Die *elektronenmikroskopische Untersuchung* der Aalschwimmblase hat für jeden ihrer Anteile einen charakteristischen Feinbau ergeben.

Noch 1952 hatte Copeland mitgeteilt, daß in der Gasdrüse der Schwimmblase von *Fundulus* sich weder Mitochondrien noch Golgi-Apparat nachweisen lassen. In den Zellen des Schwimmblasenpeithels kommen jedoch — wie zu erwarten war — *Mitochondrien* und *Golgi-Apparat* vor. Nach dem elektronenmikroskopischen Bild wird verständlich, weshalb diese Strukturen sich bisher lichtmikroskopischen Darstellungsmethoden haben entziehen können: sie sind sehr klein und wenig auffällig. Die langen fädigen Mitochondrien (Tubulustyp) sind überaus zart (100—130 mμ). Ihre Länge kann nicht angegeben werden, da sie das Cytoplasma in vielfachen Windungen durchsetzen. Dabei kommt es nicht zu bevorzugten Anhäufungen in bestimmten Zellregionen. Die Mitochondrien sind offensichtlich Wandlungen ihrer Struktur unterworfen. So trifft man innerhalb einer Zelle Mitochondrien von schlankem Bau neben solchen, die stark aufgeschwollen erscheinen. Auch zur vakuoligen Transformation von Mitochondrien scheint es zu kommen, wobei am Rande der Vakuolen Mitochondrienreste erhalten bleiben können; ähnliche Befunde erhoben Bargmann und Knoop (1960) an der Hypophyse von *Cottus*. Ob die Vakuolen mit granuliertem Inhalt, die recht häufig im Schwimmblasenepithel angetroffen werden, aus Mitochondrien hervorgehen, ist vorläufig nicht zu entscheiden.

Der äußerst unscheinbare *Golgi-Apparat* ist im elektronenmikroskopischen Präparat nur in seltenen Fällen zu sehen. In dem elektronendichten Cytoplasma der „dunklen" Epithelzellen konnte er überhaupt nicht beobachtet werden, im „hellen" Epithel wurde er nur in zwei Fällen gesehen, davon einmal in der bekannten Form von Doppellamellenstapeln mit wenigen Vakuolen, im anderen Fall im Zusammenhang mit sehr großen unregelmäßig gestalteten Hohlräumen an der Basis einer Epithelzelle. Auch das *Endoplasmatische Reticulum* ist wenig auffällig.

Unter den paraplasmatischen Einschlüssen in den Schwimmblasenepithelzellen sind am zahlreichsten die glattrandigen *osmiophilen Einschlüsse*, die wohl Fetttropfen darstellen. Diese Feststellung stimmt mit dem lichtmikroskopischen Nachweis von Fetteinschlüssen überein, die sich mit Scharlachrot färben lassen. Einschlüsse mit lamellenartigem, konzentrisch geschichtetem osmiophilem Inhalt ähneln den aus der Lunge bekannten Cytosomen (Schultz 1960 u. a.). Es läßt sich allerdings nicht entscheiden, ob sie, wie dort, von Mitochondrien abstammen.

Im Schwimmblasenepithel finden sich innerhalb eines kleinen Bezirkes nebeneinander *Epithelzellen von sehr verschiedener Bauweise*. Abgesehen von Unterschieden in der *Dichte* des Cytoplasmas („helle" und „dunkle" Zellen) tritt noch eine Reihe anderer charakteristischer Merkmale hervor, die vor allem die Ausgestaltung der basalen Zellregion betreffen. Bei den „hellen" Epithelzellen

liegt in diesem Bezirk eine große Anzahl von annähernd gleich großen Vakuolen. Daneben findet man kleine Einfaltungen der basalen Zelloberfläche. Häufiger sind Verzahnungen benachbarter Zellen an der Basis, wobei die Interzellularräume spalt- oder vakuolenartig erweitert sind. Über Ursprung und Inhalt der Vakuolen läßt sich schwer etwas aussagen. Es ist nicht zu entscheiden, ob es sich hier um Gasblasen handelt, oder ob die Hohlräume ursprünglich mit Stoffen gefüllt waren, die durch die Fixierung und Einbettung herausgelöst wurden.

Die Basis der „*dunklen*" *Epithelzellen* bietet ein sehr abwechslungsreiches Bild infolge ausgedehnter Einfaltungen der Zelloberfläche, die nach Ruska (1957) als extrazelluläres *basales Labyrinth* bezeichnet werden. Einfaltungen der Zellbasis sind von Epithelien anderer Organe bekannt: sie kommen vor in der Niere (Hauptstückepithelien, Sjöstrand u. Rhodin 1953; Rhodin 1954; Ruska, Moore u. Weinstock 1954; Schaltstücke, Pease 1955; Sammelröhrchen, Pease 1955), im Ciliarepithel (Holmberg 1955; Pease 1956), in der Glandula submaxillaris (Pease 1956), im Plexus chorioideus (Maxwell u. Pease 1956; Millen u. Rogers 1956). In keinem der angeführten Fälle liegt aber eine derartige Ausdehnung und Kompliziertheit der Anordnung vor wie bei dem Schwimmblasenepithel. Die größte Ähnlichkeit besteht zwischen der Struktur des Epithels des Plexus chorioideus und des Schwimmblasenepithels. Nach Maxwell und Pease (1956) finden sich im Plexus der Ratte dichte Einfaltungen der basalen Zelloberfläche; interessanterweise sind die zugehörigen Kapillaren mit einem Porenendothel ausgestattet. Millen und Rogers (1956) legen ähnliche Bilder vom Plexusepithel des Kaninchens vor. Hier sind, ähnlich wie beim Schwimmblasenepithel, Vesicles verschiedener Größe im Cytoplasma, dazu Einfaltungen der Zellbasis — die allerdings Mitochondrien enthalten —, Windungen von Doppelmembranen und ketten- oder kranzförmig angeordnete Vesicles festzustellen.

Ein extrazelluläres basales Labyrinth wird im allgemeinen an Zellen beobachtet, in denen ein intensiver sekretorischer oder resorptiver Flüssigkeitstransport stattfindet. In allen bisher beschriebenen Fällen liegen in den durch die Zelleinfaltungen abgeteilten Cytoplasmafächern mit großer Regelmäßigkeit sehr voluminöse Mitochondrien, die als Energielieferanten für die Leistungen des Flüssigkeitstransportes angesehen werden, wie z. B. in der Niere. Demgegenüber findet sich im Schwimmblasenepithel in diesen Cytoplasmafächern nur äußerst selten einmal eines der sehr zarten Mitochondrien. Die riesige Oberflächenvergrößerung spricht dafür, daß am Schwimmblasenepithel Flüssigkeitsverschiebungen in großem Umfang stattfinden. Ob sie sich in Richtung auf das Epithel oder auf die Blutgefäße vollziehen, ist mit morphologischen Methoden nicht zu entscheiden.

In diesem Zusammenhang verdient folgende Tatsache Beachtung: In der basalen Region der Schwimmblasenepithelzellen läßt sich *Carboanhydrase* histotopochemisch nachweisen. Daß die Gewebe der Schwimmblase und besonders der Gasdrüse dieses Ferment in reichem Maße enthalten, stellte bereits Leiner (1940) fest. Fänge (1953) wies in Gewebshomogenaten der Aalschwimmblase einen großen Carboanhydrasegehalt nach. Allerdings bedürfen seine Ergebnisse einer Korrektur. Fänge hatte an Homogenaten des Roten Körpers eine besonders hohe Fermentaktivität festgestellt. Diese dürfte aber an die Erythrocyten gebunden sein, die sich beim Homogenisieren des Roten Körpers nicht ausschalten lassen. In der

vorliegenden Untersuchung konnte ich in den Geweben des Roten Körpers histotopochemisch keine Carboanhydrase nachweisen. Dagegen stimmt die hohe Fermentaktivität des Schwimmblasenepithels gut mit Fänges chemischen Befunden überein. Auffällig ist das Vorkommen des Reaktionsproduktes in der basalen Region der Schwimmblasenepithelzellen. Ob es sich in den rundlichen Vakuolen im Cytoplasma oder in den Spalträumen des basalen Labyrinths befindet, muß vorläufig offenbleiben.

Es ist nicht zu entscheiden, ob die „hellen" und „dunklen" Epithelzellen verschiedene Zelltypen darstellen oder ob sie nur Ausdruck verschiedener Funktionszustände einer und derselben Zellform sind. Die Annahme erscheint gewagt, das basale Labyrinth diene als Substrat einer Sekretion in die Blutgefäße hinein, und die Vakuolen in der basalen Zellregion seien Gasblasen. Es ist nicht einmal klar, ob die sehr kleinen, optisch leer erscheinenden runden Hohlräume, die auch im apikalen Zellbereich auftreten können, gashaltigen Räumen entsprechen.

Bemerkenswert ist schließlich noch die Beobachtung, daß die *Zellmembranen* am Schwimmblasenepithel an manchen Stellen unterbrochen erscheinen; mit dieser Feststellung wird das Problem des Syncytiums berührt. Die meisten der lichtmikroskopisch bekannten Syncytien der Vertebraten haben sich bei elektronenmikroskopischer Betrachtung als Zellverbände mit Zellgrenzen erwiesen. Nur im Syncytiotrophoblast der Placenta (Bargmann u. Knoop 1959; Schiebler u. Knoop 1959) — möglicherweise handelt es sich um ein Plasmodium — fehlen die Zellgrenzen. Es läßt sich in unserem Falle sehr schwer entscheiden, ob Membranfalten im Schnitt schräg getroffen wurden und so scheinbar verschwinden, oder ob tatsächlich Cytoplasmabrücken zwischen den Zellen bestehen.

Der *Ductus pneumaticus* des Aales weicht in seinem Bau beträchtlich von dem anderer Physostomen ab. Wiederholt wurde die große Ähnlichkeit des Luftgangs mit den „zelligen Lungen" der Reptilien und mit anderen primitiv gebauten Wirbeltierlungen festgestellt (Queckett 1844; Pauly 1882; Jacobs 1898). Eine lungenähnliche Funktion des Ductus vermutete bereits K. E. v. Baer (1835), als er äußerte, der Ductus pneumaticus „diene dem Thier zur Atmung, wenn es das Wasser verläßt". Diese Vorstellung gewann eine wichtige Stütze durch Paulys Entdeckung (1882) der besonderen venösen Blutkreislaufverhältnisse des Ductus pneumaticus, die einem Lungenkreislauf entsprechen. Bert (1870) hatte beobachtet, daß ein Aal bis zu 36 Std außerhalb des Wassers leben kann, und Jacobs (1898) erbrachte experimentell den Beweis, daß der Aal so lange außer Wasser leben kann wie der Gasvorrat in der Schwimmblase reicht. Die elektronenmikroskopischen Befunde zeigen in der Tat eine *große Übereinstimmung auch im submikroskopischen Bau des Luftgangs und der Lunge niederer Wirbeltiere.* Besonders deutlich zeigt dies ein Vergleich mit der Lunge von *Protopterus* (de Groodt, Sebruyns u. Lagasse 1958). Die Epithelzellen im Ductus pneumaticus des Aals lassen sich mit den Alveolarzellen der Protopteruslunge vergleichen. Beide entsenden zahlreiche stachelartige Cytoplasmafortsätze in den lufthaltigen Hohlraum. In beiden Organen liegt unterhalb des Epithels ein von Bindegewebsfibrillen und -zellen erfüllter Bezirk. Die Kapillaren des Ductus pneumaticus besitzen insofern Ähnlichkeit mit den Lungenkapillaren, als ihr Endothel gänzlich geschlossen und von annähernd gleichbleibender Dicke ist. Im Gegensatz zu den Lungenkapillaren, die einen geschlossenen Deckzellbelag aufweisen, bleiben jedoch

an den Kapillaren des Luftgangs Strecken der Gefäßoberfläche zwischen den flachen Fortsätzen der Adventitialzellen frei.

Erstaunlich ist die *große Anzahl von Vesicles* im Cytoplasma sämtlicher am Aufbau der Blut-Luft-Schranke beteiligter Zellen: der Ductusepithelzellen und der Endothel- und Deckzellen der Kapillaren. Hinzukommt die starke Vesiculation der Zellmembran. In vielen Fällen sieht man den Zusammenhang der frei im Cytoplasma befindlichen Bläschen mit den Invaginationen an der Zelloberfläche. Die Bläschen entstehen also offensichtlich durch Membranvesiculation. Sie haben annähernd den Durchmesser von 70—100 mμ. Dieser Befund steht im Einklang mit anderen an Wirbeltierlungen erhobenen Befunden. Bargmann u. Knoop (1956) z. B. fanden im Endothel der Lungenkapillaren von *Xenopus* und *Rana esculenta* rundliche Vakuolen; de Groodt, Lagasse und Sebruyns (1959) entdeckten im Endothel der Lungenkapillaren von Säugern Bläschen mit Durchmessern von 500—750 Å. Starke Vesiculationen fanden die Autoren auch im luftseitigen Zellbelag der Lungenkapillaren.

Die Blut-Luft-Schranke im Ductus pneumaticus des Aals zeigt also Übereinstimmungen mit derjenigen in der Lunge niederer Wirbeltiere und von Säugern. Die Cytopempsis, die in allen diesen Fällen in den am Aufbau der Blut-Luft-Schranke beteiligten Geweben auftritt, ist offenbar wesentlich für den Stofftransport durch diese Schranke hindurch (s. auch de Groodt, Lagasse und Sebruyns). So stehen auch die hier mitgeteilten Befunde mit der Theorie einer respiratorischen Funktion des Ductus pneumaticus in Einklang.

Über die Bedeutung der *Wundernetze* in der Schwimmblase äußert sich bereits 1840 Joh. Müller wie folgt: „Da in den rothen Körpern capillare Arterien und Venen in großer Menge gemischt hinziehen, so kann zwar kein Blut aus den arteriösen Röhren in die venösen unmittelbar herübergehen, wohl aber kann ein feinerer Austausch der Capillaren der Büschel stattfinden, so daß Stoffe aus den arteriösen Röhren an die venösen übergehen, und also das Blut aus den arteriösen Röhren ganz anders hervortritt, als es hineingekommen, die venösen Röhren aber, indem sie das von der Schwimmblase gekommene Blut durch das Wundernetz führen, zugleich dasjenige beigemischt erhalten und ausführen, was aus dem arteriösen Teil der Capillaren des Wundernetzes übergeht. — Hierdurch können die rothen Körper der Schwimmblase vorbereitend auf die Zusammensetzung des Blutes für die spätere Absonderung der Luft wirken.“ Jacobs (1930) vertrat die Ansicht, die Funktion des Roten Körpers in der Schwimmblase bestehe in einem Stoffaustausch zwischen dem Blut der arteriellen und der venösen Kapillaren. Nachdem Hargitay und Kuhn (1951) bewiesen hatten, daß die Harnkonzentrierung in der Henleschen Schleife der Niere auf dem Prinzip des Haarnadel-Gegenstrom-Austauschsystems beruht, erkannte Scholander (1954), daß auch die Kapillaren der Roten Körper in den Schwimmblasen Haarnadel-Gegenstrom-Austauschsysteme darstellen. Kuhn u. Kuhn (1961; die Publikation erschien während der Drucklegung der vorliegenden Arbeit) zeigten, daß vom Rete mirabile der Schwimmblase hohe Gasdrucke aufgebaut werden können. Sie beruhen auf der Vervielfältigung von kleinen Einzeleffekten (Veränderung von p_H und Salzgehalt des Blutes durch die Gasdrüse) im Haarnadel-Gegenstrom-System des Wundernetzes.

Das Ergebnis der bisher einzigen elektronenmikroskopischen Untersuchung der Kapillaren der Schwimmblase ist in einer kurzen vorläufigen Mitteilung von Fawcett und Wittenberg (1959) über das Rete mirabile in der Schwimmblase von *Opsanus tau* mitgeteilt worden. Das Wundernetz in der Schwimmblase von *Opsanus* ist ein unipolares Wundernetz. Auf Querschnitten lassen sich zwei Typen von Gefäßen unterscheiden: die einen besitzen ein 2—4 μ dickes geschlossenes Endothel, die anderen ein Endothel von sehr unterschiedlicher Dicke. Strecken von 1—3 μ Dicke wechseln mit 10—70 mμ dicken ab. Regelrechte Endothelporen wurden nicht beobachtet; auch an den dünnsten Stellen ist immer noch eine Cytoplasmamembran von etwa 10 mμ Dicke vorhanden. Die Endothelzellen der dickwandigen Kapillaren zeigen starke Vesiculation des Cytoplasmas, die als Anzeichen für pinocytotische Vorgänge gedeutet wird; bei den anderen Gefäßen dagegen ist diese Erscheinung viel geringer.

Mit diesen Befunden stimmen die beim Aal erhobenen gut überein. Die Höhe des Endothels der arteriellen Kapillaren beträgt 1—4 μ; bei den venösen Kapillaren schwankt sie beträchtlich. Die dicksten Wandstellen haben hier eine Stärke von 0,5—2 μ; dazwischen finden sich Strecken von 20—100 mμ Höhe. Allerdings scheinen in den venösen Kapillaren nicht nur extrem flache Stellen des Endothels vorzukommen, sondern auch echte Poren, die etwa 40 mμ weit sind. Im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Opsanus tau treten im Roten Körper der Aalschwimmblase in beiden Endothelzellformen Vesciulationen auf. Der Durchmesser der Bläschen beträgt 100 mμ durchschnittlich. Nur gelegentlich wurden im Endothel der arteriellen Kapillaren vereinzelte Bläschen mit einem Durchmesser bis mehr als 200 mμ nachgewiesen.

Eine interessante Parallele zu diesen Beobachtungen sind die von Longley, Banfield und Brindley (1960) erhobenen Befunde am Rete mirabile des Nierenmarks der Ratte. Auch hier lassen sich die afferenten von den efferenten Kapillaren auf Grund ihres Endothelbaues unterscheiden. Die einen besitzen ein rundum geschlossenes Endothel von 0,2—4,7 μ Dicke, die anderen eines mit regelmäßig angeordneten Fenstern, die durch Zellmembranen überbrückt werden, also keine echten Poren darstellen. In dem Wundernetz der Niere sind die Gefäße zwar ziemlich eng benachbart, doch finden sich allenthalben Zwischenräume mit zahlreichen interstitiellen Zellen. Im Roten Körper der Aalschwimmblase dagegen sind die Interstitien zwischen den dicht beisammenliegenden Gefäßen im wesentlichen auf die Zwickel beschränkt, an denen mehrere Kapillaren aneinandergrenzen. Sie werden nur von Kollagenfibrillen durchzogen. Außer den Endothelzellen und den Adventitialzellen finden sich nur noch vereinzelte Nervenfasern. Auch im Cytoplasma der Endothelzellen des Wundernetzes der Rattenniere sind Vesiculationen zu beobachten, und zwar an arteriellen und venösen Kapillaren in gleicher Weise.

Alle besprochenen Wundernetze sind das Substrat von *Gegenstrom-Austauschvorgängen*. Bemerkenswert ist die Übereinstimmung im Aufbau der Kapillaren der drei Gefäßnetze. In jedem Fall treten zwei Typen von Endothelzellen auf, die einerseits ein geschlossenes, annähernd gleichmäßig dickes Zellager bilden, andererseits eine Cytoplasmaschicht mit stark schwankender Dicke, die mit Poren ausgestattet ist. Es ist zwar nur im Falle der Aalschwimmblase und der Rattenniere erwiesen, daß die venösen Kapillaren mit einem Porenendothel ausgestattet sind, doch dürften entsprechende Verhältnisse auch im Falle des Wundernetzes

von Opsanus tau vorliegen, obgleich dies nicht ausdrücklich vermerkt ist. Offensichtlich sind hier zwei Wege des Stoffaustausches zwischen den Gefäßen verwirklicht: der eine geht durch die Endothelporen, der andere durch die gesamte Cytoplasmaschicht mit Hilfe der Cytopempsis.

Vielleicht werden die verschiedenen Stoffe auf verschiedene Weise transportiert, gelöste Gase mit Hilfe der Cytopempsis, größere Moleküle möglicherweise durch die Poren. Dabei ist zu bedenken, daß die eigentliche Barriere zwischen den Gefäßen die Basalmembran ist (Bargmann 1950, Policard und Collet 1961). Es läßt sich nicht entscheiden, ob sich auf dem Wege von der Pore der venösen Kapillare durch das Endothel der arteriellen Kapillare etwa eine Stoffumwandlung vollzieht, denn in diesem finden sich nur Vesicles. Die Tatsache, daß in den Endothelzellen und Adventitialzellen der arteriellen Kapillaren im Roten Körper des Aales der Golgi-Apparat besonders deutlich ausgebildet ist, deutet vielleicht darauf hin, daß die Zellen nicht nur der Durchschleusung von Stoffen dienen, sondern auch aktiv an der Zusammensetzung des Kapillarinhaltes mitwirken.

Die von manchen Lichtmikroskopikern (Woodland 1911; Rauther 1922) beobachteten Unterschiede im Wandbau der Wundernetzkapillaren mancher Schwimmblasen (z. B. von Syngnathiden) sind sicher nicht mit den vorliegenden vergleichbar. Bei Syngnathiden sind die arteriellen Kapillaren mit stark ins Lumen vorragenden Vorsprüngen ausgestattet, deren Bau einer gesonderten Untersuchung bedarf.

Schließlich sollen die an der Schwimmblase auftretenden Kapillarformen noch einmal vergleichend betrachtet werden. Es lassen sich folgende Kapillartypen unterscheiden:

1. Kapillaren mit geschlossenem Endothelrohr, Basalmembran und lückenhaftem Überzug von flachen Deckzellen. a) Mit sehr flachem Endothel: Kapillaren im Ductus pneumaticus; b) mit höherem, nur an den Zellgrenzen abgeflachtem Endothel: arterielle Kapillaren des Roten Körpers, einige Kapillaren (oder nur Strecken) unter dem Schwimmblasenepithel.

2. Kapillaren mit Fenstern bzw. Poren im Endothel, Basalmembran und unvollständigem Überzug von flachen Deckzellen. a) Mit sehr weiten Lücken (200 bis 700 mμ) im Endothel: Kapillaren unter dem Schwimmblasenepithel; b) mit engen Poren von 300—400 Å Weite: venöse Kapillaren des Roten Körpers.

Kapillaren des ersten Typs sind z. B. bekannt aus dem Gehirn und dem interstitiellen Bindegewebe, die des zweiten Typs finden sich in zahlreichen endokrinen Organen und im Nierenkörperchen.

Eine auffallende Gemeinsamkeit besteht in der Vesiculation des Cytoplasmas von Endothel- und Deckzellen aller Schwimmblasenkapillaren. Die Bläschen sind bei allen Kapillaren von annähernd gleicher Größe. Ihr Durchmesser liegt mit etwa 100 mμ höher als jener der von Ruska (1958) im Endothelcytoplasma beobachteten Vesicles, deren Durchmesser mit 50—70 mμ angegeben wird. Das gleichmäßige Vorkommen dieser Bläschen in Endothel- und Deckzellen aller Schwimmblasenkapillaren legt die Vermutung nahe, daß sich in allen Gefäßen Stoffaustauschvorgänge auf dem Wege der Cytopempsis abspielen.

Die Weite der Poren im Endothel der venösen Kapillaren des Roten Körpers beträgt 300—400 Å. Sie entspricht den schon bekannten Maßen von Endothelporen; so kennt man im Endothel der Kapillaren von Amphibien Poren von 600—1200 Å Weite, im Endothel von Kapillaren endokriner Organe liegt die Porengröße zwischen 300 und 700 Å. Demgegenüber erscheinen die Lücken im Endothel der Schwimmblasenkapillaren mit einer Breite von 200—700 mμ außerordentlich weit.

Zusammenfassung

Schwimmblase, Ductus pneumaticus und Roter Körper des Aals wurden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Folgende Befunde wurden unter anderem erhoben:

1. Schwimmblase. Die *glatte Muskulatur* der Schwimmblase ist in Form von *Scherengittern* mit verstellbaren Maschen angeordnet. Ein inneres Gitter mit flach verlaufenden Windungen wird von einem äußeren Gitter mit mehr longitudinal ziehenden Touren überlagert. Beide Gitter gehen in einer mittleren Zone ineinander über. Elastische Fasern begleiten die Muskeln und bilden ein entsprechend gebautes elastisches Gitter.

Die *Kapillaren* der Schwimmblase bilden ein dichtes Netz, das je nach der Region der Schwimmblase eine unterschiedliche Bauweise hat. Die Kapillaren breiten sich rostral im großen und ganzen flächig aus, verlaufen in der Schwimmblasenmitte parallel zueinander und verzweigen sich im caudalen Abschnitt bäumchenartig.

Die Kapillaren unter dem Schwimmblasenepithel besitzen streckenweise ein geschlossenes Endothelrohr; streckenweise sind im Endothel Fenster von 200 bis 700 mμ ausgespart. Die Adventitialzellen bilden keinen geschlossenen Überzug der Gefäße.

Die elektronenmikroskopische Untersuchung des *Epithels* der Schwimmblase läßt dichte („dunkle") und weniger dichte („helle") Epithelzellen unterscheiden. Die Basis der dunklen Epithelzellen zeichnet sich durch sehr ausgedehnte und komplizierte Einfaltungen der Zelloberfläche *(basales Labyrinth)* aus, wie sie in diesem Ausmaß bisher nirgends beobachtet wurden. Die Basalregion der hellen Epithelzellen enthält verschieden große, leer erscheinende Blasen. Der *Golgi-Apparat*, von den Lichtmikroskopikern bisher im Epithel der Schwimmblase vermißt, ließ sich nur in den „hellen" Zellen in Form von Doppellamellenstapeln und Vakuolen beobachten. Die *Mitochondrien*, die in Schwimmblasengeweben lichtmikroskopisch gleichfalls noch nicht nachgewiesen werden konnten, sind feine gewundene Fäden von 150 mμ Durchmesser mit tubulärer Binnenstruktur. Feinste *Fetttröpfchen* kommen über die ganze Epithelzelle verteilt vor.

In den basalen Abschnitten der Zellen des Schwimmblasenepithels läßt sich *Carboanhydrase* histotopochemisch nachweisen.

2. Ductus pneumaticus. Die *Muskulatur* des Ductus pneumaticus besteht ebenfalls aus glatten Ring- und Längsfasern. Die Ringmuskeln bilden ein *Scherengitter*, dessen Züge sich in flachen Windungen durchflechten. Aus den Ringmuskeln scheren einzelne Bündel aus und verlaufen als Längsmuskelzüge. Die Längsmuskeln bilden halbkreis- bis kreisförmige *Manschetten*, welche die in Längsrichtung des Luftganges ziehenden marklosen *Nerven* umhüllen. Die Nerven nehmen ihren Ursprung von vegetativen *Ganglien* in der Wand des Ductus pneumaticus.

Im elektronenmikroskopischen Bild des Ductus pneumaticus zeigen sich bemerkenswerte *Ähnlichkeiten mit den Lungen niederer Wirbeltiere* (z. B. *Protopterus*, *Amblystoma*, *Xenopus*). Ein äußerst flaches Epithel mit stachelartigen Fortsätzen kleidet den Hohlraum des Ductus aus. Unter dem Epithel liegen Kapillaren mit sehr flachem, geschlossenem Endothel und unvollständigem Deckzellbelag. Alle an der Blut-Luft-Schranke beteiligten Zellen, Epithel-, Endothel-

und Deckzellen, weisen eine starke Vesiculation des Cytoplasmas auf, die als Ausdruck einer Cytopempsis im Dienste des Gasaustausches gedeutet werden kann.

3. Roter Körper. Der Rote Körper enthält *zwei Kapillartypen* von unterschiedlichem Wandbau. Die *arteriellen Kapillaren* haben eine geschlossenes Endothel, das Endothel der *venösen Kapillaren* dagegen ist von Poren (300—400 Å Weite) durchsetzt. Die Deckzellen sind im wesentlichen auf die interkapillären Zwischenräume beschränkt. Bau und Anordnung der Kapillaren des Roten Körpers, die mit dem morphologischen Verhalten der Blutkapillaren anderer Organe verglichen werden, sprechen dafür, daß ein Gegenstrom-Austauschsystem vorliegt.

Literatur

Ábrahám, A., u. A. Stammer: Pressorezeptoren in der Wand der Schwimmblase. Ann. biol. Univ. Hungar **2**, 345—360 (1954).

Akita, Y. K.: Studies on the physiology of the swimbladder. J. Fac. Tokyo Univ. **4**, 111—135 (1936).

D'Aubenton, F.: Sur le rôle de la vessie aérienne d'Heterotis niloticus Ehrenberg (Téléostéen). C.R. Acad. Sci. (Paris) **242**, 2780—2782 (1956).

Augustinsson, K.-B., and R. Fänge: Innervation and acetylcholine splitting activity of the air-bladder of fishes. Acta physiol. scand. **22**, 224—230 (1951).

Baer, K. E. v.: Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Fische, nebst einem Anhange über die Schwimmblase. Leipzig 1835.

— Beobachtungen über die Entstehungsweise der Schwimmblasen ohne Ausführungsgang. Bull. scient. publ. par l'Acad. Imp. St. Pétersbourg **1**, 15—16 (1837).

Baglioni, S.: Zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. Z. allg. Physiol. **8**, 1—80 (1908).

Ball, E. G., F. Strittmatter and G. Cooper: Metabolic studies on the gas gland of the swim bladder. Biol. Bull. Woods Hole **108**, 1—17 (1955).

Ballantyne, F. M.: Air bladder and lungs: a contribution to the morphology of the air bladder of fish. Trans. roy. Soc. Edinb. **55**, 371—394 (1927).

Bargmann, W.: Über die Struktur der Blutkapillaren. Dtsch. med. Wschr. **83**, 1704—1710 (1958).

—, u. A. Knoop: Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lungenkapillaren. Z. Zellforsch. **44**, 263—281 (1956).

— — Über die Morphologie der Milchsekretion. Licht- und elektronenmikroskopische Studien an der Milchdrüse der Ratte. Z. Zellforsch. **49**, 344—388 (1959).

— — Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Placentarzotten des Menschen. Z. Zellforsch. **50**, 472—493 (1959).

— — Vakuolenbildung und Mitochondrien. Z. Zellforsch. **51**, 456—466 (1960).

— — u. Th. H. Schiebler: Histologische, cytochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen am Nephron. Z. Zellforsch. **42**, 386—422 (1955).

Bennett, H. S.: The concepts of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 99—102 (1956).

Berlak, S.: Symbola ad anatomiam vesicae natatoriae piscium. Diss. Inaug. Königsberg 1834.

Bert, P.: Leçons sur la physiologie comparée de la respiration. Paris 1870.

Bertalanffy, F. D., and C. P. Leblond: Structure of respiratory tissue. Lancet **1955 II**, 1365—1368.

Berthold, A. A.: Über die Bedeutung und den Nutzen der Luftröhrenringe. Isis **1827**, 761—766.

Bertin, L.: Vessie gazeuse. In: Traité de Zoologie, tome XIII/2. Paris 1958.

Biot, J. B.: Mémoire sur la Nature de l'air contenu dans la vessie natatoire des poissons. Mém. de Phys. et de Chim. de la Soc. d'Arcueil, tome 1. Paris 1807.

Black, V. S.: The effect of asphyxation under various tensions of carbone dioxide on the swimbladder gases of some freshwater fish. Canad. J. Res. **20**, 209—219 (1942).

Black, V. S.: Chloride, carbonic anhydrase, and catalase in the tissues of the perch perca flavescens (Mitchill). Rev. canad. Biol. **5**, 311—318 (1946).
— Changes in density, weight, chloride, and swimbladder gas in the Killfish, Fundulus heteroclitus, in fresh water and sea water. Biol. Bull. **95**, 83—93 (1948).
Blinkova, L. F.: The innervation of the gaze gland of the airbladder of some fishes. Vestn. Leningrad Univ., Ser. Biol. **21**, H. 4, 72—78 (1956).
Böker, H.: Über einige neue Organe bei luftatmenden Fischen und im Uterus der Anakonda. Anat. Anz. **76**, 148—155 (1933).
Bohr, C.: The influence of section of the vagus nerve on the disengagement of gases in the air bladder of fishes. J. Physiol. (Lond.) **15**, 494—500 (1894).
— Blutgase und respiratorischer Gaswechsel. In Nagels Handbuch der Physiologie, Bd. 1. 1905.
— K. A. Hasselbalch u. A. Krogh: Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß, den die Kohlensäurespannung auf dessen Sauerstoffbindung übt. Skand. Arch. Physiol. **16**, 402—412 (1904).
Borelli, G. A.: De motu animalium ex unico principio statico deducta. Romae 1680—1681.
Brachet, J.: Biochemical cytology. New York: Academic Press Inc. Publ. 1957.
—, and A. E. Mirsky: The Cell. Biochemistry, Physiology, Morphology, vol. 1. New York: Academic Press Inc. Publ. 1959.
Braunsteiner, H.: Elektronenmikroskopische Befunde an Zellen. Internat. Sympos. über klin. Cytodiagnostik. Stuttgart 1958.
Breemen, V. L. van, and C. D. Clemente: Silver deposition in the central nervous system and hematoencephalic barrier studied with the electron microscope. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 161—166 (1955).
— J. F. Reger and W. G. Cooper: Observations on the basement membranes in rat kidney. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 283—286 (1956).
Bridge, T. W.: The structure and function of the air-bladder in certain fishes. Proc. Birmingham Phil. Soc. **7**, 144 (1889/91).
Brown, F. A.: Response of the swimbladder of the guppy, Lebistes reticulatus, to sudden pressure decreases. Biol. Bull. Woods Hole **76**, 48—58 (1939).
Buck, R. C.: The fine structure of endothelium of large arteries. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 187—190 (1958).
Carter, G. S.: Aquatic and aerial respiration in animals. Biol. Rev. **6**, 1—35 (1931).
—, and L. C. Beadle: The fauna of the swamps of the paraguyan chaco in relation to its environment. I. Physico-chemical nature of the environment. J. Linnean Soc. **37**, 205 (1930); — II. Respiratory adaptations in the fishes. J. Linnean Soc. **37**, 327—368 (1931).
Carus, C. G.: Lehrbuch der vergleichenden Zootomie, durch 20 Kupfertafeln erläutert, 2. Aufl. Leipzig 1834.
Charles, A.: An electron microscopic study of the human axillary apocrine gland. J. Anat. (Lond.) **93**, 226—232 (1959).
Clark, S. L.: Cellular differentiation in the kidneys of newborn mice studies with the electron microscope. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 349—362 (1957).
Coggi, A.: Intorno ai corpi rossi della vescica natatoria di alcuni Teleostei. Mitt. Zool. Stat. Neapel **7**, 381—400 (1887).
— Über den epithelialen Theil der sog. Blutdrüsen in der Schwimmblase des Hechts (Esox lucius). Morph. Jb. **15**, 555—559 (1889).
Configliachi, P.: Sull'analisi dell'aria contenuta nella vesica natatoria dei pesci. Pavia 1809.
Copeland, D. E.: Histophysiology of teleostean physoclistous swimbladder. Fed. Proc. **10**, 437 (1951).
— The histophysiology of the teleostean physoclistous swimbladder. J. cell. comp. Physiol. **40**, 317—335 (1952).
— The stimulus of the swimbladder reflex in physoclistous teleosts. J. exp. Zool. **120**, 203—212 (1952).
— Function of the glandular pseudobranch in teleosts. Amer. J. Physiol. **167**, 775 (1952).
— and A. J. Dalton: An association between mitochondria and the endoplasmic reticulum in cells of the pseudobranch gland of a teleost. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 393—396 (1959).

Corning, H. K.: Beiträge zur Kenntnis der Wundernetzbildung in den Schwimmblasen der Teleostier. Morph. Jb. **14**, 1—53 (1888).
Costa, O. G. de: Storia ed anatomia dell'Anguilla e monografia delle nostrali specie di questo genere. Napoli 1850.
Cuvier, G.: Rapport fait à la classe des sciences physiques et mathématiques sur le mémoire de M. Delaroche relatif à la vessie aérienne des poissons. Ann. Mus. Hist. natur. Paris **14**, 165—183 (1809).
—, et A. Valenciennes: Histoire naturelle des Poissons, vol. I. Paris 1828.
Czermak, J. N.: Vorläufige Mitteilungen über die Schwimmblase von Esox lucius. Z. wiss. Zool. **2**, 121—123 (1850).
Dalton, A. J., and M. D. Felix: A comparative study of the Golgi complex. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 79—84 (1956).
Davies, R. E.: The mechanism of hydrochloric acid production by the stomach. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. **26**, 87—120 (1951).
Deineka, A.: Zur Frage über den Bau der Schwimmblase. Z. wiss. Zool. **78**, 149—164 (1904).
Delaroche, F.: Observations sur la vessie aérienne des Poissons. Ann. Mus. Hist. natur. Paris **14**, 184—217 (1809).
Dempsey, E. W.: Variations in the structure of mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 305—310 (1956).
—, and G. B. Wislocki: An electron microscopic study of the blood-brain barrier in the rat, employing silver nitrate as a vital stain. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 245—256 (1955).
— — Electron microscopic observations on the placenta of the cat. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 743—754 (1956).
Dijkgraaf, S.: Über die Auslösung des Gasspuckreflexes bei Fischen. Experientia (Basel) **6**, 188—190 (1950).
Dorn, E.: Neue Untersuchungen über den Feinbau der Teleosteerschwimmblase. Verh. dtsch. zool. Ges. **1960**, 225—233.
Eissele, L.: Histologische Studien an der Schwimmblase einiger Süßwasserfische. Biol. Zbl. **42**, 125—137 (1922).
Ekholm, R.: The ultrastructure of the blood capillaries in the thyroid gland. Z. Zellforsch. **46**, 139—146 (1957).
— The ultrastructure of the stimulated mouse thyroid gland. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie Berlin, S. 378—381, 1958.
Emery, C.: Fierasfer. Monographie. Fauna und Flora des Golfes von Neapel. 1880.
Erxleben, J. Chr. P.: Über den Nutzen der Schwimmblase bei den Fischen. Physik.-chem. Abh. **1**, Leipzig 1776, S. 343—347.
Evans, H. M., and G. C. C. Damant: Observations on the physiology of the swim bladder in cyprinoid fishes. Brit. J. exp. Biol. **6**, 42—55 (1928).
Fänge, R.: Observations on the air-bladder of Ctenolabrus. Kgl. fysiogr. Sällsk. Lund Förh. **15**, 224—228 (1945).
— Carbonic anhydrase and gas secretion in the swimbladder of fishes. 18. Internat. Physiol. Congr. Abstr. of communication, S. 192—193, 1950.
— The mechanisms of gas transport in the euphysoclistic swimbladder. Diss. Lund 1953.
— The structure and function of the gas bladder in Argentina silus. Quart. J. micr. Sci. **99**, 95—102 (1958).
—, and A. Mattison: The gas secretory structures and smooth muscles of the swimbladder of cyprinoids. In Bertil Hanström, Zoological papers in honour of his sixty-fifth birthday. Zoological Institute, Lund 1956.
Farquhar, M. G., and J. Fr. Hartmann: Electron microscopy of cerebral capillaries. Anat. Rec. **124**, 288—289 (1956).
—, and S. R. Wellings: Electron microscopic evidence suggesting secretory granule formation within the Golgi apparatus. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 319—322 (1957).
Fauré-Fremiet, E., et H. Garrault: Le tissu conjonctif aciculaire de la vessie natatoire. Arch. Anat. micr. Morph exp. **33**, 81—94 (1937).
Fawcett, D. W., and J. Wittenberg: The fine structure of capillaries in the rete mirabile of the swim bladder of Opsanus tau. Anat. Rec. **133**, 274 (1959).
Ferreira, D.: L'ultrastructure des cellules du pancréas endocrin chez l'embryon et le rat nouveau-né. J. ultrastruct. Res. **1**, 14—25 (1957).

Fischer, G.: Versuch über die Schwimmblase der Fische. Leipzig 1795.
Franz, G.: Über die reflektorische Regulierung des Gasgehaltes in der Schwimmblase der Fische. Verh. dtsch. zool. Ges. **38**, 290—291 (1936).
— Über den Reflex des Gasspuckens bei Fischen und die Funktion des Weberschen Apparates. Z. vergl. Physiol. **25**, 193—238 (1937).
Freeman, J. A.: The ultrastructure of the double membrane systems of Mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 353—354 (1956).
Frey-Wyssling, A.: Die submikroskopische Struktur des Cytoplasmas. I. Elektronenmikroskopische Cytomorphologie. Protoplasmatologia, Bd. II/A 2. Wien: Springer 1955.
Gansler, H., et Ch. Roullier: Modifications physiologiques et pathologiques du chondriome. Schweiz. Z. allg. Path. **1956**, 217—243.
Gérard, P.: Les sacs aériens des Crossoptérygiens et les poumons des Dipneustes. Études anatomique et histologique. Arch. Biol. (Liège) **42**, 251 (1931).
Gieseking, R.: Elektronenoptische Beobachtungen im Alveolarbereich der Lunge. Beitr. path. Anat. **116**, 177—199 (1956).
Glaser, W.: Grundlagen der Elektronenoptik. Wien: Springer 1952.
Gomori, G.: The distribution of Phosphatase in normal organs and tissues. J. cell. comp. Physiol. **17**, 71—84 (1941).
Goor, H. van: Carbonic anhydrase. Enzymologia **13**, 73—164 (1948).
Gouriet, E.: Du rôle de la vessie natatoire. Ann. Sci. natur. Zool. **6**, 369—382 (1866).
Groniowski, J., and W. Djaczenko: The ultrastructure of rat lung in the pre- and postnatal period. Some remarks on the fine structure of the foetal alveolar epithelium. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, S. 404—409.
Groodt, M. de, A. Lagasse and M. Sebruyns: Fine structure of the alveolar wall of the lung. Nature (Lond.) **181**, 1066—1067 (1958).
— — — Vesikulationsvorgänge der Blut-Luftschranke der Lunge. Z. wiss. Mikr. **64**, 90—94 (1959).
— M. Sebruyns u. A. Lagasse: Elektronenmikroskopische Morphologie der Lungenalveolen des Protopterus und Amblystoma. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958d.
Guyénot, E.: Les fonctions de la vessie natatoire des poissons téléostéens. Bull. Sci. France Belg. **43**, 203—296 (1909).
— et W. Plattner: Recherches sur la vessie natatoire des poissons. I. Ligature du canal pneumatique et cystectomie des poissons physostomes. Rev. suisse Zool. **45**, 469—486 (1938).
— — II. Response à des critiques et valeur des documents radiographiques. Rev. suisse Zool. **46**, 325—361 (1939).
Haempel, O.: Einiges zur Anatomie und Physiologie der Schwimmblase beim Aal und den Renken. Zool. Anz. **34**, 381—384 (1909).
Häusler, G.: Zur Technik und Spezifität des histochemischen Carboanhydrasenachweises im Modellversuch und in Gewebsschnitten von Rattennieren. Histochemie **1**, 29—47 (1958).
Hagman, N.: Studien über die Schwimmblase einiger Gadiden und Macruriden. Akad. Abh. Lund 1921.
Haguenau, F.: The ergastoplasm: Its history, ultrastructure, and biochemistry. Int. Rev. Cytol. **7**, 425—484 (1958).
—, et F. Lacour: Cytologie électronique de tumeurs hypophysaires expérimentales; leur apparail de Golgi. C. R. 8e Congr. Internat. Biol. Cell. Leyden 1954.
Haldane, J. A., and J. G. Priestley: Respiration. London and Oxford 1935.
Haldane, J. S.: Secretion and Absorption of gas in the Swimming-bladder and Lungs. Science **7**, 2, 120, 237 (1898).
Hall, H. G.: The function of the swimbladder of fishes. Biol. Bull. Woods Hole **47**, 79—126 (1924).
Hargitay, B., u. W. Kuhn: Das Multiplikationsprinzip als Grundlage der Harnkonzentrierung in der Niere. Z. Elektrochem. **55**, 539—558 (1951).
Hartmann, J. Fr.: Electron microscopy of the neurohypophysis in normal and histamine-treated rats. Z. Zellforsch. **48**, 291—308 (1958).
Hasse, J. C.: Beobachtungen über die Schwimmblase der Fische. Anat. Stud. **1**, 583—610 (1872/73).

Hirsch, G. Chr.: Der Arbeitscyclus im Pankreas und die Entstehung der Eiweiße. Naturwissenschaften **45**, 349—358 (1958).
— Die Entstehung der Verdauungsenzyme im exokrinen Pankreas der Säugetiere. Materia med. Nordmark **11**, 5 (1959).
— Dynamik der tierischen Zelle. In Handbuch der Biologie, Bd. 1. Konstanz: Athenaion 1959.
— Die Zellorganellen und ihre Zusammenarbeit. In Handbuch der Biologie, Bd. 1. Konstanz: Athenaion 1960.
Hirsch, Th. v., u. J. W. Boellaardt: Methacrylsäureester-Einbettung für histologische Zwecke. Z. wiss. Mikr. **64**, 24—29 (1958).
Hogben, C. A. M.: The teleostean swim-bladder. Nature (Lond.) **182**, 1622 (1958).
Hollmann, K.-H.: L'ultrastructure de la glande mammaire normale de la souris en lactation. Étude au microscope électronique. J. ultrastruct. Res. **2**, 423—443 (1959).
Horstmann, E., u. A. Knoop: Zur Struktur des Nucleolus und des Kerns. Z. Zellforsch. **46**, 100—107 (1957).
— — Elektronenmikroskopische Studien an der Epidermis. I. Rattenpfote. Z. Zellforsch. **47**, 348—362 (1958).
Hoven, H.: Contribution a l'étude du fonctionnement des cellules glandulaires. Du rôle du chondriome dans la sécrétion. Arch. Zellforsch. **8**, 555—611 (1912).
Hüfner, G.: Zur physikalischen Chemie der Schwimmblasengase. Arch. f. Anat. **1892**, 54—79.
Huschke, E.: Diss. inauguralis sistens quaedam de metamorphosi organorum respiratorium in animalium serie et de vesica natatoria piscium quaestiones. Jenae 1818.
Irving, L., and S. W. Gringel: The secretion of oxygen at high pressures from the blood of fishes. J. cell. comp. Physiol. **14**, 409—410 (1939).
Jacobi, H.: De vesica aerea piscium cum appendice de vesica aerea cellulosa Erythrini. Berlin 1840.
Jacobs, Chr.: Über die Schwimmblase der Fische. Inaug.-Diss. Tübingen 1898.
Jacobs, W.: Untersuchungen zur Physiologie der Schwimmblase. I. Über die „Gassekretion" in der Schwimmblase der Physoklisten. Z. vergl. Physiol. **11**, 565—629 (1930).
— II. Die Volumregulation in der Schwimmblase des Flußbarsches. Z. vergl. Physiol. **18**, 125—165 (1932).
— III. Luftschlucken und Gassekretion bei Physostomen. Z. vergl. Physiol. **20**, 675—698 (1934).
— IV. Die erste Gasfüllung der Schwimmblase bei jungen Seepferdchen. Z. vergl. Physiol. **25**, 379—388 (1938).
— Das Schweben der Wasserorganismen. Ergebn. Biol. **11**, 131—218 (1935).
— Beobachtungen über das Schweben der Siphonophoren. Z. vergl. Physiol. **24**, 583—601 (1937).
— Die Schwimmblase der Fische als Schwebeorgan, nebst einigen Bemerkungen über die Gassekretion bei Staatsquallen. Naturwissenschaften **28**, 33—43 (1940).
— Fliegen, Schwimmen, Schweben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1954.
Jaeger, A.: Die Physiologie und Morphologie der Schwimmblase der Fische. Pflügers Arch. ges. Physiol. **94**, 65—138 (1903).
— Die Physiologie der Schwimmblase der Fische. Biol. Zbl. **24**, 129—142 (1904).
— Zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. Anat. Anz. **29**, 683—685 (1906).
Jobert, M.: Recherches anatomiques et physiologiques pour servir à l'histoire de respiration chez les poissons. Ann. Sci. natur. (VI) Zool. **7**, 1—7 (1878).
Jolyet, F.: Contributions à l'étude de la physiologie comparée du sang des vertébrés ovipares. Gaz. méd. Paris **45**, 381 (1874).
—, et P. Regnard: Recherches physiologiques sur la respiration des animaux aquatiques. Arch. Physiol. norm. path. **4**, 44—62, 584—633 (1877).
Jones, F. R. Harden: The swimbladder and the vertical movements of teleostean fishes. I. Physical factors. J. exp. Biol. **28**, 553—566 (1951).
— II. The restriction to rapid and slow movements. J. exp. Biol. **29**, 94—109 (1952).
— The swimbladder. In: The Physiology of Fishes, vol. II. New York 1957.
—, and N. B. Marshall: The structure and functions of the teleostean swimbladder. Biol. Rev. **28**, 16—83 (1953).

Jong, J. C. M. de: Beiträge zur Kenntnis des Baues und der Entwicklung der Schwimmblase einiger Physoclisten. Proefschrift, Amsterdam 1936.
Kanwisher, J., and A. Ebeling: Composition of the swim-bladder gas in bathypelagic fishes. Deep-Sea Res. **4**, 211—217 (1957).
Karrer, H. E.: The ultrastructure of mouse lung. General architecture of capillary and alveolar walls. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 241—252 (1956).
— The ultrastructure of the mouse lung. A note on the fine structure of mitochondria and endoplasmic reticulum of the bronchiolar epithelium. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 115—118 (1956).
— The ultrastructure of mouse lung. Some remarks regarding the fine structure of the alveolar basement membrane. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 287—290 (1956).
— The ultrastructure of mouse lung. The alveolar macrophage. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 693—700 (1958).
Khalil, F.: Die Bedeutung der Schwimmblase für die Atmung der Fische. Z. vergl. Physiol. **25**, 256—282 (1937).
Kisch, B.: Electron microscopic investigations of the lungs (capillaries and specific cells). Exp. Med. Surg. **13**, 101—117 (1955).
Koch, H.: L'émission de gaz dans la vésicule gazeuse des poissons. Rev. Quest. Sci. Leuwen **26**, 385—409 (1934).
Koelreuter, J. G.: Observationes in gado lota institutae. Novi commentarii academiae scientiarum imperialis. Petropolitanae **19**, 424—434 (1775).
Krogh, A.: The rate of diffusion of gases through animal tissues, with some remarks on the coefficient of invasion. J. Physiol. (Lond.) **52**, 391—408 (1919).
— Anatomie und Physiologie der Capillaren. Übers. von U. Ebbecke. Berlin: Springer 1924.
—, and J. Leitch: The respiratory function of the blood in fishes. J. Physiol. (Lond.) **52**, 288—300 (1919).
Kuhn, W., u. H. J. Kuhn: Multiplikation von Aussalz- und anderen Einzeleffekten für die Bereitung hoher Gasdrucke in der Schwimmblase. Z. Elektrochem. **65**, 426—439 (1961).
Kuiper, K.: The physiology of the airbladder in fishes. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **17**, 1088 (1915); **18**, 572 (1916).
Kurosumi, K., Jijima, T. and T. Kitamura: Electron microscopy of the human eccrine sweat gland with special reference to the folding of plasma membrane. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, S. 361—365.
Langer, E., u. S. Huhn: Der submikroskopische Bau der Myoepithelzelle. Z. Zellforsch. **47**, 507—516 (1958).
Ledebur, J. v.: Beiträge zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. I. Z. vergl. Physiol. **8**, 445—460 (1928).
— II. Versuch einer experimentellen Sonderung des Gassekretions- und Gasresorptionsorgans in der Schwimmblase. Z. vergl. Physiol. **10**, 431—439 (1929).
— III. Über Veränderungen der Gasdrüse bei trommelsüchtigen Fischen. Z. vergl. Physiol. **23**, 34—41 (1936).
— V. Über die Beeinflussung des Sauerstoffbindungsvermögens des Fischblutes durch Kohlensäure bei hohem Sauerstoffdruck. Z. vergl. Physiol. **25**, 156—169 (1937).
— Über die Sekretion und Resorption von Gasen in der Fischschwimmblase. Biol. Rev. **12**, 217—244 (1937).
—, u. W. Wunder: Beiträge zur Physiologie der Schwimmblase. IV. Beobachtungen an Stichlingen, die ihre Schwimmblase nicht mit Gas füllen konnten. Z. vergl. Physiol. **25**, 149—155 (1937).
Leiner, M.: Die Kohlensäureanhydratase der Syngnathiden. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Bremen. Zool. Anz. **10**, Suppl., 136 (1937).
— Die Physiologie der Fischatmung. In: Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches, Bd. 6/I. Abt., 2. Buch: Echte Fische. Leipzig 1938.
— Das Atmungsferment Kohlensäureanhydrase im Tierkörper. Naturwissenschaften **28**, 165—171 (1940).
—, u. G. Leiner: Das Ferment Kohlensäurehydratase im Tierkörper. Biol. Zbl. **60**, 449—472 (1940).

Lereboullet, A.: Anatomie comparée de l'appareil respiratoire dans les animaux vertébrés. Thèse d'anatomie comparée, soutenue le 4 août 1838 pour obtenir le grade de docteur des sciences. Strasbourg 1838.

Lever, J. D.: The subendothelial space in certain endocrine tissues. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 293—294 (1956).

Lewis, W. H.: Pinocytosis. Bull. Johns Hopk. Hosp. **49**, 17—28 (1931).

Leydig, F.: Anatomisch-histologische Untersuchungen über Fische und Reptilien. Berlin 1853.

— Kleinere Mitteilungen zur tierischen Gewebelehre. Arch. Anat. **1854**, 296—348.

Liebreich, O.: Über die physikalische Funktion der Schwimmblase der Fische. Arch. Anat. **1890**, 360—363.

Lindner, E.: Die submikroskopische Morphologie des Herzmuskels. Z. Zellforsch. **45**, 702 bis 746 (1957).

Liu, C. K.: Preliminary studies of the airbladder and its adjacent structures in Gobioninae. Sinensia **11**, 77—104 (1940).

Longley, J. B., W. G. Banfield and D. C. Brindley: Structure of the Rete mirabile of the kidney of the rat as seen with the electron microscope. J. biophys. biochem. Cytol. **7**, 103—105 (1960).

Low, F. N.: Mitochondrial structure. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 337—339 (1956).

Luse, S. A.: Electron microscopic observations of the central nervous system. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 531—542 (1956).

Marshall, N. B.: Air bladder structure and vertical distribution in deep sea fishes. Challenger Soc. Ann. Rept. **3**, 26 (1950).

Maxwell, D. S., and D. C. Pease: The electron microscopy of the choroid plexus. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 467—474 (1956).

Maynard, E. A., R. L. Schultz and D. C. Pease: Electron microscopy of the vascular bed of rat cerebral cortex. Amer. J. Anat. **100**, 409—422 (1957).

Meesters, A., u. P. Nagel: Über Sekretion und Resorption in der Schwimmblase des Flußbarsches. Z. vergl. Physiol. **21**, 646—657 (1934).

Meierhans, J.: Le canal pneumatique et la vessie natatoire des poissons physostomes. C. R. Acad. Sci. (Paris) **200**, 582 (1935).

— Vessie natatoire et canal pneumatique chez les poissons Cyprinides. C. R. Soc. Phys. Hist. nat. Gèneve **52**, 62 (1935).

Mende, Th. J., and E. Chambers: Studies on solute transfer in the vascular endothelium. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 319—322 (1958).

Millen, J. W., and G. E. Rogers: An electron microscopic study of the choroid plexus in the rabbit. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 407—415 (1956).

Miller, F.: Orthologie und Pathologie der Zelle im elektronenmikroskopischen Bild. Verh. Dtsch. Ges. für Pathol., 42. Tagg, 1958, S. 261—332.

—, u. E. Bohle: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Basalmembran der Glomerulumcapillaren der Maus bei experimentellem Nierenamyloid. Klin Wschr. **34**, 1204—1210 (1956).

Monro, A.: The structure and physiology of fishes. Edinburgh 1785.

— Vergleichung des Baues und der Physiologie der Fische mit dem Bau des Menschen und der übrigen Tiere. Aus dem Englischen übersetzt durch J. G. Schneider. Leipzig 1787.

Moore, D. H., and H. Ruska: The fine structure of capillaries and small arteries. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 457—462 (1957).

Moreau, A.: Sur l'air dans la vessie natatoire des poissons. C. R. Acad. Sci. (Paris) **56**, 37, 816 (1863).

— Canal de sureté de la vessie natatoire chez le sinchard (Caranx trachurus). C. R. Soc. Biol. (Paris), Sér. VI, **2**, 223—225 (1875).

— Recherches expérimentales sur les fonctions de la vessie natatoire. Ann. Sci. natur. (VI) Zool. **4**, 85 (1876).

Moreau, E.: Histoire naturelle des poissons de la France, 1—3. Vessie natatoire, tome I, p. 177—181. Paris: 1881—1891.

Mott, J. C.: The gross anatomy of the blood vascular system of the eel Anguilla anguilla. Proc. zool. Soc. Lond. **120**, 503—518 (1950).

Muchina, O. P.: Eine vergleichend-histologische Untersuchung des Baues der Schwimmblasenwandung. Bull. Inst. rech. biol. Univ. Perm **6**, 409—424 (1929).
Müller, Joh.: Von den Blutgefäßkörpern der Schwimmblase. Abh. der Berliner Akadamie 1839.
— Über Nebenkiemen und Wundernetze. Arch. Anat. Physiol. u. Med. **1840**, 101—142.
— Beobachtungen über die Schwimmblase der Fische, mit Bezug auf einige neue Fischgattungen. Arch. Anat. Physiol. u. Med. **1842**, 307—329.
— Untersuchungen über die Eingeweide der Fische. Ber. Verh. Kgl. Preuß. Akad. Wiss. Berlin, S. 109—170, 1845.
Needham, G.: Disquisitio anatomica de formato foetu. Londini 1668.
Neumann, K., u. G. Koch: Übersicht über die feinere Verteilung der Succino-Dehydrogenase in Organen und Geweben verschiedener Säugetiere, besonders des Hundes. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **295**, 35—61 (1953).
Newman, S. B., E. Borysko, and M. Swerdlow: New sectioning techniques for light and electron microscopy. Science **110**, 66—68 (1949).
Niessing, K., u. H. Rollhäuser: Über den submikroskopischen Bau des Grundhäutchens der Hirnkapillaren. Z. Zellforsch. **39**, 431—446 (1954).
Nordmann, M., u. R. Bässler: Elektronenoptische Untersuchungen an Kapillaren. Verh. Dtsch. Ges. für Pathol., 41. Tagg, 1957, S. 320—325.
Nusbaum, J.: Zur Histologie der tätigen Gasdrüse und des Ovals bei den Teleostiern. (Eine Antwort an Alfred Jaeger.) Anat. Anz. **31**, 169—174 (1907).
Oppel, A.: Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. VI. Atmungsapparat: Schwimmblase. Jena 1905.
— Atmungsapparat: Schwimmblase. Ergebn. Anat. Entwickl.-Gesch. **14** (1904); **15** (1905); **17** (1907).
Owen, R.: The comparative anatomy and physiology of vertebrates, vol. I. 1866.
Pak Poy, R. K. F., and J. S. Robertson: Electron microscopy of the avian renal glomerulus. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 183—192 (1959).
Palade, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. **95**, 285—298 (1952).
— The fine structure of mitochondria. Anat. Rec. **114**, 427—451 (1952).
— The endoplasmic reticulum. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 85—96 (1956).
— Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. J. biophys. biochem. Cytol. **2**. 417—422 (1956).
— The endoplasmic reticulum. J. biophys. biochem. Cytol. **2** Suppl. 85—98 (1956).
—, and K. R. Porter: Studies on the endoplasmic reticulum. I. Its identification in cells in situ. J. exp. Med. **100**, 641—656 (1954).
— — II. Simple depositions in cells in situ. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 567—582 (1955).
—, and P. Siekewitz: Pancreatic microsomes. An integrated morphological and biochemical study. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 671—690 (1956).
Palay, S. L.: The morphology of secretion. Frontiers in cytology. New Haven: Yale University Press 1958.
—, and L. J. Karlin: An electron microscopy study of the intestinal villus. I. The fasting animal. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 363—372 (1959).
— — II. The pathway of fat absorption. J. biophys. biochem. Cytol. **5**, 373—384 (1959).
Panzera, O.: Sulla fine struttura dei corpi rossi della vescica natatoria. Atti Soc. ital. Sci. Naturali **70**, 29—44 (1931).
Pappenheimer, J. R.: Passage of molecules through capillary walls. Physiol. Rev. **33**, 387—423 (1953).
— Über die Permeabilität der Glomerulummembranen in der Niere. Klin. Wschr. **33**, 362—365 (1955).
Pauly, A.: Beitrag zur Anatomie der Schwimmblase des Aals (Anguilla fluviatilis). Habil.-Schr. München 1882.
Pease, D. C.: Electron microscopy of the vascular bed of the kidney cortex. Anat. Rec. **121**, 701—713 (1955).
— Electron microscopy of the tubular cells of the kidney cortex. Anat. Rec. **121**, 723—743 (1955).

Pease, D. C.: Fine structures of the kidney seen by electron microscopy. J. Histochem. Cytochem. **3**, 295—308 (1955).
— Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 203—208 (1956).
— The basement membrane: substratum of histological order and complexity. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, S. 139—155.
Perrault, Cl..: Oevres diverses de physique et de mécanique des animaux, vol. II. Leide 1721.
Petry, G.: Über die Formen und die Verteilung elastisch-muskulöser Verbindung in der Haut der Haustaube. Morph. Jb. **91**, 511—535 (1952).
Plattner, W.: Vessie natatoire et canal pneumatique. C. R. Soc. Biol. (Paris) **126**, 1072—1074 (1937).
— Vessie natatoire et rejet de bulles gazeuses chez les poissons physostomes. C. R. Soc. Biol. (Paris) **127**, 7—9 (1938).
— Étude sur la fonction hydrostatique de la vessie natatoire des poissons. Rev. suisse Zool. **48**, 201—336 (1941).
Poche, R., u. E. Lindner: Untersuchungen zur Frage der Glanzstreifen des Herzmuskelgewebes beim Warmblüter und beim Kaltblüter. Z. Zellforsch. **43**, 104—120 (1955).
Policard, A., et A. Collet: Apport de la microscopie électronique à la connaissance histophysiologique de la paroi alvéolaire. J. Physiol. (Paris) **48**, 687—690 (1956).
— — et S. Pregermain: Étude au microscope électronique des capillaires pulmonaires. Acta anat. (Basel) **30**, 624—638 (1957).
— — — Physiologie du tissu conjonctif. Paris: Masson & Cie. 1961.
Popta, C. M. L.: Étude sur la vessie aérienne des poissons. Sa fonction. Ann. Sci. natur. (IX) Zool. **12**, 1—160 (1910).
Porter, K. R.: Studies on the endoplasmic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 269—300 (1957).
Potter, G. E., and J. T. Self: The development of the posterior cardinal veins in relation to the swimbladder in Lepidosteus. J. Morph. **56**, 1—20 (1934).
Priefer, B.: Über die Funktion der Schwimmblase. Berlin 1892.
Queckett, J.: On a peculiar arrangement of blood vessels in the air bladder of fishes, with some remarks on the evidence which they afford of the true function of that organ. Trans. micr. Soc. Lond. **1**, 99—108 (1844).
Rabaud, E., et M. L. Verrier: Système vasculaire et glande gazeuse de la vessie natatoire et comportement. Bull. Soc. Sci. et Station biol. d'Arcachon, Bordeaux, **30**, 167—178 (1933).
— — Morphologie comparée de la vessie natatoire en fonction et comportement. C. R. Soc. Biol. (Paris) **112**, 22—24 (1933).
— — Recherches sur la vessie natatoire. I. Étude expérimentale et comparée des poissons soumis à diverses pressions. Bull. biol. France Belg. **68**, 188—231 (1934).
— — II.—VII. Les gaz de la vessie natatoire. Bull. biol. France Belg. **69**, 87—136 (1935).
— — Vessie natatoire et canal pneumatique. C. R. Acad. Sci. (Paris) **200**, 778—780 (1935).
— — Les récentes recherches sur la vessie natatoire. Paris: Lipschutz 1939.
Rathke, H.: Bemerkungen über die Schwimmblase einiger Fische. Neueste Schriften der natur. forsch. Ges. in Danzig, Bd. 2, Heft 2, S. 102—120. Halle 1827.
— Zur Anatomie der Fische. 3. Abt.: Über die Schwimmblase. Arch. Anat. Physiol. **1838**, 413—445.
Rauther, M.: Über die respiratorische Schwimmblase vom Umbra. Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. **34**, 339—364 (1914).
— Zur vergleichenden Anatomie der Schwimmblase der Fische. Ergebn. Fortschr. Zool. **5**, 1—66 (1922).
— Die Syngnathiden des Golfes von Neapel. Fauna Flora Golfo Napoli 36. Monogr. 1925.
— Die Schwimmblase. In Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere, Bd. 3. Berlin: Urban & Schwarzenberg 1937.
— Die Schwimmblase. In: Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Bd. 6, I. Abt., 2. Buch: Echte Fische. Leipzig 1940.
— Über die Schwimmblase und die zu ihr in Beziehung tretenden somatischen Muskeln bei den Triglidae und anderen Scleroparei. Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **69**, 159—320 (1945).

Ray, J., and F. Willughby: Historia piscium. London 1686.
Reimer, L.: Elektronenmikroskopische Untersuchungs- und Präparationsmethoden. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.
Reis, K.: Weitere Beiträge zur Kenntnis der Gasdrüse bei den Knochenfischen. Anz. Akad. Wissensch. Krakau, math.-nat. Kl. **1906**, 771—777.
—, u. J. Nusbaum: Zur Histologie der Gasdrüse in der Schwimmblase der Knochenfische, zugleich ein Beitrag zur Trophospongienfrage. Anat. Anz. **27**, 129—139 (1905).
— — Weitere Beiträge zur Kenntnis des Baues und der Funktion der Gasdrüse und des Ovals in der Schwimmblase der Knochenfische (Ophididae, Percidae). Anat. Anz. **28**, 177—191 (1906).
Rhodin, J.: Correlation of ultrastructure organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Thesis, Karolinska Institutet, Stockholm 1954.
— Electron microscopy of the glomerular capillary wall. J. exp. Cell. Res. **8**, 572—574 (1955).
- Ergebnisse der elektronenmikroskopischen Erforschung von Struktur und Funktion der Zelle. Verh. Dtsch. Ges. für Path. **1958**, S. 274—284.
Richard, J.: Sur les gaz de la vessie natatoire des poissons. C.R. Acad. Sci. (Paris) **120**, 745—747 (1895).
Rondelet, G.: De piscibus marinis. Lugduni 1554.
Root, R. W.: The respiratory function of the blood of marine fishes. Biol. Bull. Woods Hole **61**, 427—456 (1931).
Rouiller, C., and W. Bernhard: "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 355—360 (1956).
Ruska, H.: The morphology of muscle fibers and muscle cells with different properties of conduction of excitation. Exp. Cell Res. Suppl. **5**, 560—567 (1958).
— Das System der Zelle. Studium gen. **12**, 133—142 (1959).
— G. A. Edwards and R. Caesar: A concept of intracellular transmission of excitation by means of the endoplasmic reticulum. Experientia (Basel) **14**, 117—120 (1958).
—, Moore, D. H., and J. Weinstock: The base of the proximal convoluted tubule cells of rat kidney. J. biophys. biochem. Cytol. **3**, 249—254 (1957).
Safford, V.: Asphyxation of marine fish with and without CO_2 and its effect on the gas content of the swimbladder. J. cell. comp. Physiol. **16**, 165—173 (1940).
Saunders, R. L.: The swimbladder gas content of some freshwater fish with particular reference to the physostomes. Canad. J. Zool. **31**, 547—560 (1953).
Saupe, M.: Anatomie und Histologie der Schwimmblase des Flußbarsches (Perca fluviatilis) mit besonderer Berücksichtigung des Ovals. Z. Zellforsch. **30**, 1—35 (1939).
Scevola, D.: Contributo alla conoszenza dell'innervazione delle vescica natatoria dei Ciprinidi (Cyprinus carpio L.). Monit. zool. ital. **48**, 283—287 (1938).
Schiebler, T. H., u. A. Knoop: Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Rattenplazenta. Z. Zellforsch. **50**, 494—552 (1959).
Schloesing, Th., et J. Richard: Recherche de l'argon dans les gaz de la vessie natatoire des poissons et des physalies. C.R. Acad. Sci. (Paris) **122**, 615—617 (1896).
Scholander, P. F.: Secretion of gases against high pressures in the swimbladder of deep sea fishes. II. The rete mirabile. Biol. Bull. Woods Hole **107**, 260—277 (1954).
— Observations on the gas gland in living fish. J. cell. comp. Physiol. **48**, 523—528 (1956).
—, C. L. Claff, C. T. Teng and V. Walters: Nitrogen tensions of marine fishes in relation to the depth. Biol. Bull. Woods Hole **101**, 178—193 (1951).
—, and L. van Dam: Composition of the swimbladder gas in deep sea fishes. Biol. Bull. Woods Hole **104**, 75—86 (1953).
— — Secretion of gases against high pressures in the swimbladder of deep sea fishes. I. Oxygen dissociation in blood. Biol. Bull. Woods Hole **107**, 247—259 (1934).
— — Micro gasometric determination of oxygen in fish blood. J. cell. comp. Physiol. **48**, 529—532 (1956).
— — and Th. Enns: The source of oxygen secreted into the swimbladder of cod. J. cell. comp. Physiol. **48**, 517—522 (1956).
— — — Nitrogen secretion in the swimbladder of white-fish (Coregonus). Science **123**, 59—60 (1956).

Schulz, H.: Elektronenoptische Untersuchungen der normalen Lunge und der Lunge bei Mitralstenose. Virchows Arch. path. Anat. **328**, 582—604 (1956).
— Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lunge des Siebenschläfers nach Hibernation. Z. Zellforsch. **46**, 583—597 (1957).
— Die submikroskopische Pathologie der Cytosomen in den Alveolarmakrophagen der Lunge. Beitr. path. Anat. **119**, 71—91 (1958).
— Die submikroskopische Morphologie des Kiemenepithels. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie, Berlin 1958, S. 421—426.
— Die submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge. Berlin-Heidelberg-Göttingen: Springer 1959.

Schulze, Fr. E.: Die Lungen. In: Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Tiere. Leipzig 1871.

Schwarz, W., u. M. Hofmann: Das Doppellamellen-System in den Drüsenzellen der Parotis. 4. Internat. Kongr. für Elektronenmikroskopie Berlin 1958, S. 369—371.

Séabra, A. F. de: Sur les corps rouges des téléostéens. (Note préliminaire). Bull. Mus. Hist. natur. **3**, 217—220 (1897).

Selby, C. C.: An electron microscope study of the epidermis of mammalian skin in thin sections. I. Dermo-epithelial junction and basal cell layer. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 429—444 (1955).

Sjöstrand, F. S.: The organization of the cytoplasm of the excretory cells of the mouse pancreas. J. appl. Physics **24**, 116 (1953).
— The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney. J. appl. Physics **24**, 116 (1953).
— The ultrastructure organization of retinal rods and cones. J. appl. Physics **24**, 117 (1953).
— Electron microscopy of mitochondria and cytoplasmatic double membranes. Ultrastructure of rod-shaped mitochondria. Systems of double membranes in the cytoplasm of certain tissue cells. Nature (Lond.) **171**, 30—32 (1953).
— Electron microscopy of cells and tissues. Physical techn. Biol. Res. **3**, 241—298 (1956).
— The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope. Int. Rev. Cytol. **5**, 455—533 (1956).
—, and V. Hanzon: Ultrastructure of Golgi apparatus of exocrine cells of mouse pancreas. J. exp. Cell Res.. **7**, 415—429 (1954).
—, and J. Rhodin: The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy. J. exp. Cell. Res. **4**, 426—456 (1953).

Sobotka, H., and S. Kann: Carbonic anhydrase in fishes and invertebrates. J. cell. comp. Physiol. **17**, 341—348 (1941).

Spencer, B.: Der Bau der Lungen von Ceratodus und Protopterus. Denkschr. Med.-Naturwiss. Ges. Jena, S. 4 (I), 1898.

Srivastava, P. N.: Morphology and histology of the airbladder of certain sciaenoid fishes with description of a new type of ear-airbladder-connection. Proc. Nat. Inst. Sci. India, Part B **21**, 74—78 (1955).
— On the air-bladder of Chirocentrus dorab Forsk. and the relationship of family Chirocentridae with Clupeidae. Zool. Anz. **156**, 284—288 (1956).

Stärk, F.: Histologische Studien an dem Schwimmblasengang und der Schwimmblase der Renken. Z. Anat. Entwickl.-Gesch. **70**, 308—312 (1924).

Stannius, H.: Handbuch der Zootomie von Siebold und Stannius, 2. Aufl., Teil 2. Berlin 1854.

Stefanelli, A.: La fine innervazione della vesica natatoria di ciprino dorato (Carassius auratus) in rapporto con le sue funzioni. Monit. zool. ital. **55**, 1—9 (1946).

Strittmatter, C. F., E. G. Ball and O. Cooper: Glycolytic activity in the swimbladder gland. Biol. Bull. Woods Hole **103**, 317 (1952).

Taylor, J.: Über die Atemorgane und die Luftblase gewisser Fische im Ganges. Isis **1835**, 307—310.

Terio, B.: Le espansioni nervosi della vescica natatoria del ciprinide dorato (Carassius auratus). R.C. Accad. Napoli **14**, 17—19 (1948).

Thiel, A.: Licht- und elektronenmikroskopische Studie über das Nierenkörperchen der griechischen Landschildkröte (Testudo graeca). Z. Zellforsch. **47**, 288—319 (1958).
— Mitochondrien. Dtsch. med. Wschr. **84**, 2038—2045 (1959).
Thilo, O.: Die Entstehung der Schwimmblasen (vorläufige Mitteilung). Biol. Zbl. **23**, 528 (1903).
— Die Luftwege der Schwimmblase. Zool. Anz. **30**, 591—596 (1906).
Tracy, H. C.: The morphology of the swimbladder in teleosts. Anat. Anz. **38**, 600—606, 638—649 (1911).
Traube-Mengarini, M.: Über die Gase in der Schwimmblase der Fische. Arch. Anat. Physiol., Physiol. Abt. 1889.
Treviranus, G. R., u. L. Ch.: Über die Verrichtung der Schwimmblase bei den Fischen. Vermischte Schriften, Bd. 2. Bremen 1817.
Trier, J. St.: The fine structure of the parathyroid gland. J. biophys. biochem. Cytol. **4**, 13—22 (1958).
Vicq D'Azyr: Anatomische Kennzeichen der Fische. Übersetzt von J. G. Schneider. Leipzig 1795.
Vincent, S., and A. S. Barnes: On the structure of the red glands in the swimbladder of certain fishes. J. Anat. (Lond.) **30**, 545—558 (1896).
Vogel, A.: Zelloberfläche und Zellverbindungen im elektronenmikroskopischen Bild. Verh. Dtsch. Ges. Path. **41**, 284—295 (1957).
Vollrath, L.: Über Entwicklung und Funktion der Belegzellen der Magendrüsen. Z. Zellforsch. **50**, 36—60 (1959).
Wassermann, F.: The structure of the wall of the hepatic sinusoids in the electron microscope. Z. Zellforsch. **49**, 13—32 (1958).
Watson, M. L.: The nuclear envelope. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 257—270 (1955).
—, and Ph. Siekevitz: Cytochemical studies of mitochondria. I. The separation and identification of a membrane fraction from isolated mitochondria. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, 639—669 (1956).
Wegener, M.: Zur Physiologie der Schwimmblase der Fische. Z. allg. Physiol. **10**, 249—272 (1910).
Willmer, E. N.: Some observations on the respiration of certain tropical fishes. Brit. J. exp. Biol. **11**, 283—306 (1934).
Winterstein, H.: Die physikalisch-chemischen Erscheinungen der Atmung. In Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie, Bd. 1, 1921.
Woodland, W. N. F.: On a new gland in teleostean fishes. Proc. Zool. Soc. Lond. **1908**, 431—433.
— On the structure and function of the gas glands and retia mirabilia associated with the gas gland of some teleostean fishes, with notes on the teleostean pancreas. Proc. Zool. Soc. Lond. **1911**, 183—248.
— On some experimental tests of recent views concerning the physiology of gas secretion in teleostean fishes. Anat. Anz. **40**, 225—242 (1912).
— Notes on the structure and mode of action of the "oval" in the pollack (Gadus pollachius) and mullet (Mugil chelo). J. Mar. biol. Ass. U.K. **9**, 561—565 (1913).
Wunder, W.: Physiologie der Süßwasserfische Mitteleuropas. In Handbuch der Binnenfischerei Mitteleuropas, Bd. 2, Teil B. Stuttgart: Nägele 1936.
Wyckoff, R. W. G.: The world of the electron microscope. New Haven: Yale University Press 1957.
Yamada, E.: The fine structure of the renal glomerulus of the mouse. J. biophys. biochem. Cytol. **1**, 551—566 (1955).
Zelander, T.: The ultrastructure of the adrenal cortex of the mouse. Z. Zellforsch. **46**, 710—716 (1957).
Zetterqvist, H.: The ultrastructural organization of the columnar absorbing cells of the mouse jejunum. Stockholm 1956.

Dr. Emmi Dorn,
Zoologisches Institut der Universität, Mainz

Autorenverzeichnis des 55. Bandes

Alescio,T., Sul comportamento del polmone embrionale di pollo coltivato in vitro. S.123

Andres,K.H., Untersuchungen über den Feinbau von Spinalganglien. S.1

— Untersuchungen über morphologische Veränderungen in Spinalganglien während der retrograden Degeneration. S.49

Apponi,G. s. Viale,G. S.673

Bargmann,W., und A.Knoop, Weitere Studien am Saccus vasculosus der Fische. S.577

Björkman,N., and B.Fredricsson, The bovine oviduct epithelium and its secretory process as studied with the electron microscope and histochemical tests. S.500

Blakely,J.L. s. Worthington jr.,W.C., and J.R.Shealy. S. 635

Bloom,G., and L.Nicander, On the ultrastructure and development of the protoplasmic droplet of spermatozoa. S.833

Brolin,S. s. Hellman,B., C.Hellerström and S.Larsson. S.235

Bussche-Haddenhausen,U.von dem, Vergleichende Studien über Bau und Funktion des Amnions. Das Säugeramnion am Beispiel des Gürteltieramnions *(Dasypus novemcinctus)*. S.679

David,H., Zur Morphologie der Leberzellmembran. S.220

Dorn,E., Über den Feinbau der Schwimmblase von *Anguilla vulgaris* L. Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen. S.849

Ferner,H., und H.Gansler, Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Glandula submandibularis und parotis des Menschen. S.148

Ferreira,J.F.D., Sur la structure et le pouvoir phagocytaire des plaquettes sanguines. S.89

Fredricsson,B. s. Björkman,N. S.500

Fujita,H., An electron microscopic study of the adrenal cortical tissue of the domestic fowl. S.80

Gansler,H., Struktur und Funktion der glatten Muskulatur. II. Licht- und elektronenmikroskopische Befunde an Hohlorganen von Ratte, Meerschweinchen und Mensch. S.724

— s. Ferner,H. S.148

Grohmann,D., Mitotische Wachstumsintensität des embryonalen und fetalen Hühnchenherzens und ihre Bedeutung für die Entstehung von Herzmißbildungen. S.104

Gusek,W., Zur ultramikroskopischen Cytologie der Belegzellen in der Magenschleimhaut des Menschen. S.790

Hackett,E.M. s. Nebel,B.R. S.556

Hager,G., Über das Vorkommen von Lamellenkörperchen im adventitiellen Gewebe des Interdigitalorganes des Rehes. S.143

Hellerström,C. s. Hellman,B., S.Larsson and S.Brolin. S.235

Hellman,B., C.Hellerström, S.Larsson and S.Brolin, Histochemical observations on the pancreatic islets in normal and obese-hyperglycemic mice. S.235

Hoffmeister,H., K.Lickfeld, H.Ruska et B.Rybak, Sécrétions granulaires dans le coeur branchial de *Myxine glutinosa* L. S.810

Irie,M. s. Yoshimura,F. S.204

Jansen,W.F., and J.C.van deKamer, Histochemical analysis and cytological investigations on the coronet cells of the saccus vasculosus of the rainbow trout *(Salmo irideus)*. S.370

Kamer,J.C.van de s. Jansen,W.F. S.370

Knese,K.-H., und A.-M.Knoop, Chondrogenese und Osteogenese. Elektronenmikroskopische und lichtmikroskopische Untersuchungen. S.413

Knoche,H., Morphologisch-experimenteller Beitrag zum lichtmikroskopischen Bau des vegetativen Nervensystems. II. Mitteilung: Die Endigungsweise der postganglionären Nervenfasern. S.514

Knoop,A. s. Bargmann,W. S.577

— s. Knese,K.-H. S. 413

Kurosumi,K., M.Yamagishi and M.Sekine, Mitochondrial deformation and apocrine secretory mechanism in the rabbit submandibular organ as revealed by electron microscopy. S.297

Larsson,S. s. Hellman,B., C.Hellerström and S.Brolin. S.235

Lickfeld,K. s. Hoffmeister,H., H.Ruska et B.Rybak. S.810

MacClure,E. s. Schulz,H. S.389

Masshoff,W., und H.-J.Stolpmann, Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Schalenhaut und Kalkschale des Hühnereies. S.818

Matsuura,S. s. Yamori,T., and S.Sakamoto. S.179

Nebel,B.R., and E.M.Hackett, Synaptinemal complexes in primary spermatocytes of the mouse: the effect of elevated temperature and some observations on the structure of these complexes in control material. S.556

Nicander,L. s. Bloom,G. S.833

Palkovits,M., Zwei karyometrisch unterscheidbare Zelltypen im Subcommissuralorgan der Ratte. S.845

Porte,A. s. Virágh,Sz. S.263, 282

Riedel,B., Aufnahme von Jod^{131} in Schilddrüsengewebekulturen bei Verwendung verschiedener Nährmedien. S.610

Robertis,E.de s. Wald,F. S.649

Rollhäuser,H., und P.Santamaría-Arnáiz, Histophysiologische Untersuchungen über den Mechanismus der Schockwirkung auf die Durchblutung der Rattenniere. S.696

Ruckes,J., Experimentelle Untersuchungen über die Resorptionsfähigkeit des Stratum synoviale. S.313

Ruska,H. s. Hoffmeister, H., K.Lickfeld et B.Rybak. S.810

— s. Schmidt,W.J. S.379

Rybak, B. s. Hoffmeister,H., K.Lickfeld et H.Ruska. S.810

Sakamoto,S. s. Yamori,T. and S.Matsuura. S.179

Santamaría-Arnáiz,P. s. Rollhäuser,H. S.696

Schmidt,G.H., Sekretionsphasen und cytologische Beobachtungen zur Funktion der Oenocyten während der Puppenphase verschiedener Kasten und Geschlechter von *Formica polyctena* Foerst. (Ins. Hym. Form.) S.707

Schmidt,W.J., Histologische Untersuchungen an Papageienfedern mit gelbem eigenfluoreszierenden Pigment. S.469

— und H.Ruska, Elektronenmikroskopische Untersuchung der Pigmentgranula in den schillernden Federstrahlen der Taube *Columba trocaz* H. S.379

Schulz,H., und E.MacClure, Elektronenmikroskopische Untersuchung des *Trypanosoma cruzi* mit besonderer Berücksichtigung des Periplasten und des Blepharoplasten. S.389

Schwarz,W., Elektronenmikroskopische Untersuchungen an den Chordazellen von *Petromyzon*. S.597

Sekine,M. s. Kurosumi,K. and M.Yamagishi. S.297

Shealy,J.R. s. Worthington jr.,W.C. and J.L.Blakely. S.635

Sotelo,J.R. s. Wainrach,S. S.622

Stegner,H.-E., Das Epithel der Tuba uterina des Neugeborenen. Elektronenmikroskopische Befunde. S.247

Sterba,G., Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Neurosekretion beim Bachneunauge (*Lampetra planeri* Bloch). S.763

Stolpmann,H.-J. s. Masshoff,W. S.818

Struck,E., Vergleichende Untersuchungen über das „Geschlechtschromatin" bei einigen Haustieren mit Hilfe des Buccal-Tests. S.662

Szabo,T., Rapports ontogénetiques entre l'organe électrique, son innervation et sa commande encéphalique *(Mormyrus rume)*. S.200

Thoenes,W., Zur Feinstruktur der Macula densa im Nephron der Maus. S.486

Venkovski,T.D., Notes cytologiques sur la glande sus-parotidienne du rat albinos. Dimorphisme sexuel, vacuoles cytoplasmiques et vésicules intranucléaires. S.566

Venugopalan,V.K., Localization of ribo- and desoxyribo-nucleic acid in fish oocytes. S.617

Viale,G., und G.Apponi, Histochemische Untersuchungen über die Cholinesterasen in der menschlichen Netzhaut. S.673

Virágh,Sz., et A.Porte, Structure fine du tissu vecteur dans le cœur de rat. S.263

— — Elements nerveux intracardiaques et innervation du myocarde. Étude au microscope électronique dans le cœur de rat. S.282

Wainrach,S., and J.R.Sotelo, Electron microscope study of the developing chick embryo heart. S.622

Wald,F., and E.deRobertis, The action of glutamate and the problem of the "extracellular space" in the retina. An electron microscope study. S.649

Worthington jr., W.C., J.R.Shealy and J.L.Blakely, Histologic studies on the neurohypophysis of the living frog. S.635

Yamagishi,M. s. Kurosumi,K. and M.Sekine. S.297

Yamori,T., S.Matsuura and S.Sakamoto, An electron-microscopic study of the normal and stimulated adrenal cortex in the rat. S.179

Yoshimura,F., und M.Irie, Licht- und elektronenmikroskopische Studie an den Kristalloiden in der Schilddrüsenzelle. S.204

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

1. Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören.

2. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigungen bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Dasselbe gilt von Versuchen und Beobachtungen, die ein positives Resultat nicht ergeben haben. Arbeiten, rein referierenden Inhalts werden abgelehnt, vorläufige Mitteilungen nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellung der Tatbestände ist zulässig. Aufsätze spekulativen Inhalts sind nur dann geeignet, wenn sie durch neue Gesichtspunkte die Forschung anregen.

II. Formelle Anforderungen

1. Das Manuskript muß leicht leserlich (möglichst in Maschinenschrift) geschrieben sein Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern beizufügen. Diktierte Arbeiten bedürfen der stilistischen Durcharbeitung zwecks Vermeidung von weitschweifiger und unsorgfältiger Darstellung. Absätze sind nur zulässig, wenn mit ihnen ein neuer Gedankengang beginnt.

2. Die Arbeiten müssen *kurz* und stilistisch einwandfrei geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) herzustellen.

3. Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

4. Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, die in einer der Kongreßsprachen abgefaßt sein kann.

5. Von jeder Versuchsart bzw. jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text oder, wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen, durch eine Fußnote daraufhinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen oder angefordert werden kann.

6. Die *Abbildungen* sind auf das unbedingt Notwendige zu beschränken. Kurven, Diagramme usw., die nur zur Illustration von Befunden dienen und ohne weiteres im Text beschrieben werden können, werden zurückgewiesen. Knappe, klare Abbildungsunterschriften (Legenden) erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Sie sind getrennt von den Abbildungen dem Manuskript im Anschluß an das Literaturverzeichnis beizufügen. Unzulässig ist die *doppelte* Darstellung in Abbildung *und* Kurve. Bereits veröffentlichte Abbildungen können nicht wiederholt werden. Ausnahmen hiervon sind nur in besonders begründeten Fällen möglich. *Farbige* Bilder können in der Regel keine Aufnahme finden. Für Kurven oder Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzung reproduziert werden können, genügt die Ablieferung sauberer, klarer Skizzen, die vom Verlag umgezeichnet werden. Bei Halbtonbildern (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind saubere, scharfe und tonwertreiche Originalvorlagen (Hochglanzabzüge von Originalphotographien) notwendig. Besondere Wünsche des Autors hinsichtlich des linearen Verkleinerungs- und Vergrößerungsmaßstabes der Vorlagen sollen vermerkt werden.

Die *Beschriftung* der Abbildungen mit Buchstaben oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise hierfür sollen keinesfalls in der Abbildung selbst, sondern auf einem darüberliegenden transparenten Deckblatt angegeben werden. Dort sind auch Abstriche oder gewünschte Bildausschnitte zu bezeichnen. Hinweispfeile oder -linien sind ebenfalls auf dem Deckblatt anzubringen, wobei die Endpunkte durch Einstich mit einer feinen Nadel auf der darunterliegenden Originalvorlage fixiert werden sollen. Es empfiehlt sich ferner, auf dem Deckblatt wichtige Abbildungspartien zu kennzeichnen, damit die Kunstanstalt bei der Ätzung ihr besonderes Augenmerk darauf richten kann.

7. Literaturangaben sollen Autorennamen, vollständigen Titel der Arbeit, Zeitschrift, Band- und Seitenzahl sowie Jahreszahl umfassen [z.B. Böke, W.: Untersuchungen des Linsenepithels mit dem Phasenkontrastmikroskop. Z. Zellforsch. *38*, 428—454 (1953)]. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen alphabetisch anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammern gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

8. Methodik, Protokolle und weniger wichtige Teile des Textes sind für *Kleindruck* vorzumerken. Die Lesbarkeit des Wesentlichen wird hierdurch gehoben.

9. Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel einer Arbeit nicht die gleichen sind.

10. An *Dissertationen*, soweit deren Aufnahme überhaupt zulässig erscheint, werden nach Form und Inhalt dieselben Anforderungen gestellt wie an andere Arbeiten. Danksagungen an Institutsleiter, Dozenten usw. werden nicht abgedruckt. Zulässig sind einzeilige Fußnoten mit der Mitteilung, wer die Arbeit angeregt und geleitet oder wer die Mittel dazu gegeben hat. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

Pathologisch-histologisches Praktikum

Von Professor Dr. Herwig Hamperl,
Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Bonn

Sechste Auflage

Mit 185 Abbildungen, davon 9 farbige auf 2 Tafeln.
VIII, 260 Seiten 8°. 1961. Steif geheftet DM 12,60

INHALTSVERZEICHNIS

Einleitung · Blut · Herz · Gefäße · Leber · Niere · Respirationstrakt, Lunge · Milz · Zentralnervensystem · Magen-Darm-Trakt · Knochensystem · Drüsen · Geschlechtsorgane · Lymphatischer Apparat · Skeletmuskulatur · Spezifische Entzündungen · Tierische Parasiten · Gutartige Tumoren des Binde- und Stützgewebes · Bösartige Tumoren des Binde- und Stützgewebes · Gutartige epitheliale Tumoren · Bösartige epitheliale Tumoren (Carcinome, Krebse) · Verschiedene Tumoren · Anhang: Zusammenstellung einiger Präparate nach Gesichtspunkten der allgemeinen Pathologie · Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany